

**ASISTENCIA TÉCNICA PROFESIONAL EN LA EVALUACIÓN *in Vitro* DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Hedychium coronarium* J. Koenig SOBRE LA
ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.**

ELIANA YAMILE PAZ MONTAÑEZ

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2012**

**ASISTENCIA TÉCNICA PROFESIONAL EN LA EVALUACIÓN *in Vitro* DEL
ACEITE ESENCIAL DE *Hedychium coronarium* J. Koenig SOBRE LA
ACTIVIDAD REPRODUCTIVA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.**

LIANA YAMILE PAZ MONTAÑEZ

**Informe final de pasantía presentado como requisito parcial para optar al
título de Bióloga.**

Director

**Silvio Marino Carvajal Varona
Magister en Ciencias Biológicas**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACION
PROGRAMA DE BIOLOGÍA
POPAYÁN
2012**

Nota de Aceptación

Director _____
M. Sc. Silvio Marino Carvajal

Jurado _____
M. Sc. María del Pilar Rivas

Jurado _____
Ph.D. Patricia Vélez Varela

Popayán, 29 de noviembre de 2012

*A mis padres, hermanos
y esposo, pero
especialmente a mi razón
de vida, mi hijo.*

AGRADECIMIENTOS

A toda mi familia que siempre creyó en mí, pero especialmente a mi hijo Emiliano por ser mi fuente de motivación y felicidad.

A mi mamita, mi papito y mis hermanos, por ser los soportes de mis metas y mis sueños.

A mi esposo por su paciencia, su entrega y su amor.

A la Universidad del Cauca, sus docentes y administrativos por la oportunidad de formación.

Al Mg. Silvio Carvajal por su acompañamiento en la etapa final de mi carrera

A la Mg. Nilsa Velasco, Jefe del Departamento de Biología, la Coordinadora del Programa de Biología Mg. Patricia Torres, a las docentes del Programa de Biología Ph.D. Luz Stella Hoyos, Ph.D. Patricia Vélez y Mg. María del Pilar Rivas. A la señora Ana Julia Muñoz, Administrativa de Admisiones Unicauca, gracias por su apoyo.

Al Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano y en su representación al Ing. Henry Liscano Parra, Subdirector SENA Pitalito.

Al Ing. Gustavo Vega Orozco por confiar en mi trabajo y brindarme la oportunidad de proyectarme laboralmente.

A la Instructora Adriana Peña Torres, por su amistad, su colaboración y por su respeto a mi trabajo.

A todos los instructores de la unidad productiva de Biodiversidad por su compañerismo y colaboración.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	8
TABLA DE CONTENIDO	9
INDICE DE FIGURAS.....	11
INDICE DE TABLAS	13
RESUMEN.....	14
1. INTRODUCCION	15
2. CARACTERIZACION DEL CONTEXTO INSTITUCIONAL	16
2.1 SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE (SENA).....	16
2.1.1 Reseña histórica.....	16
2.2 DESCRIPCIÓN DEL SENA	16
2.2.1 Misión del SENA	16
2.2.2 Visión del SENA	17
2.3 ESTRUCTURA ORGANIZATIVA.....	17
2.4 DESCRIPCIÓN DEL DEPARTAMENTO DONDE SE REALIZÓ LA PASANTÍA.....	17
3. RECUESTO ANALITICO DEL CARGO OCUPADO DENTRO DE LAS ACTIVIDADES DE PASANTÍA	21
4. DESCRIPCION DE LAS ACCIONES, ACTIVIDADES Y LOGROS.....	22
4.1 DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES PARA CUMPLIR CON LOS OBJETIVOS DE LA PASANTÍA	23
4.1.2 Obtención y manejo del material vegetal.....	23
4.1.3 Obtención y selección de garrapatas del ganado.....	25

4.1.4 Análisis y resultados.....	33
4.2 ACTIVIDADES ADICIONALES COMPLEMENTARIAS.....	43
4.2.1 Elaboración de protocolos.	43
4.2.2 Montaje del ensayo para la evaluación letal del aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i> sobre larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	44
4.2.3 Participación a evento de Divulgación Tecnológica.	45
5. APORTES DEL PRACTICANTE AL DESARROLLO DE LA INSTITUCIÓN ...	47
6. RESULTADOS DEL DESARROLLO DE LA PASANTÍA.....	48
7. ANALISIS DE LAS HABILIDADES Y DESTREZAS ADQUIRIDAS.....	49
8. DISCUSION DE LOS RESULTADOS ALCANZADOS Y CUMPLIMIENTO DEL PLAN DE ACCIÓN.....	51
9. RECOMENDACIONES	53
10. REFERENTE BIBLIOGRAFICO.....	54

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organigrama Nacional del SENA	19
Figura 2. Diagrama de jerarquías académicas	20
Figura 3. Actividades desarrolladas en la pasantía.....	22
Figura 4. Acondicionamiento del material vegetal.....	24
Figura 5. Muestra testigo de <i>Hedychium coronarium J. Koenig</i> para herborizar. ..	25
Figura 6. Planta de extracción de Aceites esenciales por la técnica de arrastre por vapor.....	26
Figura 7. Colecta de Garrapatas.....	27
Figura 8. Identificación taxonómica de la garrapata utilizada en los ensayos.....	27
Figura 9. Inmersión de teleoginas según la metodología de Drummond (1967)....	29
Figura 10. Distribución de las teleoginas en cajas de Petri para facilitar la colecta de huevos.	30
Figura 11. Paso de huevos a jeringas modificadas.....	31
Figura 12. Conteo de cascarones y huevos de garrapatas.....	32
Figura 13. Peso de huevos en los ensayos “Concentraciones bajas” y “Concentraciones altas”	36
Figura 14. Capacidad ovipositora de las hembras tratadas con aceite esencial de <i>Hedychium coronarium J. Koenig</i> , evaluada para los dos ensayos.	38

Figura 15. Porcentajes de inhibición de la oviposición, según concentración de aceite esencial.	40
Figura 16. Reproducción estimada de las garrapatas tratadas con aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i>	41
Figura 17. Eficiencia del aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i> sobre el control de la garrapata común del ganado.....	42
Figura 18. Evaluación de la actividad biocida del aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i> sobre larvas de garrapatas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	44

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Medias \pm desviación típica, del peso de huevos, porcentaje de inhibición, porcentajes de eclosión y eficiencia del producto en garrapatas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> , tratadas con aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i> , en el ensayo “Concentraciones bajas” (CB)	34
Tabla 2. Medias \pm desviación típica, del peso de huevos, porcentaje de inhibición, porcentajes de eclosión y eficiencia del producto en garrapatas <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> , tratadas con aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i> , en el ensayo “Concentraciones altas” (CA)	35
Tabla 3. Habilidades y destrezas adquiridas con las actividades de pasantía.....	49

RESUMEN

Con el apoyo personal en el Área de Biología se puso en marcha el proyecto técnico de la Unidad Productiva de Biodiversidad. El aceite esencial de *Hedychium coronarium J. Koenig* obtenido por la técnica de arrastre por vapor, fue evaluado usando la metodología de inmersión de hembras adultas propuesto por Drummond en 1973, sobre la garrapata común del ganado (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), en búsqueda de un método menos agresivo con el medio ambiente y efectivo en el control integrado de este ectoparásito. Se desarrollaron dos ensayos; para el primer ensayo se diseñó evaluar tres concentraciones de aceite esencial, agua y 2% de tween 80 como emulsificante (3,75%, 6,25%, 12,5%); para el segundo, 25%, 50%, 75% y 100 y un positivo, elaborado con “impacto” un garrapaticida comercial con la Cipermetrina como componente activo. En los dos casos se usó un comparativo como testigo con agua y tween solamente. Los dos ensayos mostraron que el aceite esencial evaluado influye en el comportamiento de los parámetros reproductivos, reduciendo la oviposición y el porcentaje de eclosión hasta en un 100%, demostrando ser una propuesta promisoría como controlador del ciclo biológico de la plaga.

1. INTRODUCCION

Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Ácari, Ixodidae), es uno de los más importantes parásitos a nivel mundial y el número uno en el Neotrópico (de Oliveira Monteiro *et al.*, 2010), teniendo en cuenta las estimaciones de pérdidas económicas (Bellgard *et al.*, 2011).

En Colombia se estiman pérdidas en cerca de 10.000 millones de pesos por año, representadas en la disminución de la producción de leche y carne, daños a las pieles, muerte de animales, dificultad a la aclimatación de razas susceptibles e inversión en tratamientos curativos (Parra *et al.*, 1999).

Además, son vectores de microorganismos causantes de enfermedades bovinas tales como babesiosis, causada por los protozoarios *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* y la anaplasmosis, causada por la rickettsia *Anaplasma marginale* (Bellgard *et al.*, 2011).

Combatir estos artrópodos se torna difícil con el uso de biocidas químicos por el desarrollo de resistencia en poblaciones de garrapatas y los niveles de contaminación que generan en el medio ambiente. Para superar este problema, los métodos naturales como los fitotratamientos, surgen como alternativas que ofrecen su control (Álvarez *et al.*, 2008), resultando eficientes, económicos, fáciles, biodegradable, sostenible y amigables con el ambiente (Pivoto *et al.*, 2010).

En este trabajo se evaluaron los efectos del aceite esencial de la *Hedychium coronarium* en diferentes concentraciones sobre la actividad reproductiva de la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, evidenciando el control del ciclo biológico hasta un 100%.

2. CARACTERIZACION DEL CONTEXTO INSTITUCIONAL

2.1 SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE (SENA)

Es un establecimiento público del orden nacional, con personería jurídica, patrimonio propio e independiente y autonomía administrativa, adscrito al Ministerio de Trabajo y Seguridad Social de la República de Colombia (DE EDUCACIÓN, 2003).

2.1.1 Reseña histórica. En 1957 nace de la necesidad de que el país contara con un instituto de formación laboral técnica. Así, el SENA nació durante el Gobierno de la Junta Militar, posterior a la renuncia del General Gustavo Rojas Pinilla, mediante el Decreto-Ley 118, del 21 de junio de 1957, gracias a la iniciativa de Rodolfo Martínez Tono.

Su fin era la de impartir formación profesional a trabajadores, adultos y jóvenes del comercio, la minería, la ganadería y la industria. Además de proporcionar instrucción técnica para adultos. Su creador estaba convencido que sin capacitación al talento humano no existiría desarrollo en el país.

El nombre, SENA, lo escogió Martínez Tono, quien admiraba el río Sena que cruza a París, la ciudad luz, capital de Francia, donde estudió aspectos relacionados con la formación profesional.

2.2 DESCRIPCIÓN DEL SENA

2.2.1 Misión del SENA

“El Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) se encarga de cumplir la función que le corresponde al Estado de invertir en el desarrollo social y técnico de los trabajadores colombianos, ofreciendo y ejecutando la

Formación Profesional Integral gratuita, para la incorporación y el desarrollo de las personas en actividades productivas que contribuyan al desarrollo social, económico y tecnológico del país” («Servicio Nacional de Aprendizaje SENA - Misión - visión - valores», s. f.).

2.2.2 Visión del SENA

“El SENA será una organización de conocimiento para todos los colombianos, innovando permanentemente en sus estrategias y metodologías de aprendizaje, en total acuerdo con las tendencias y cambios tecnológicos y las necesidades del sector empresarial y de los trabajadores, impactando positivamente la productividad, la competitividad, la equidad y el desarrollo del país”(«Servicio Nacional de Aprendizaje SENA - Misión - visión - valores», s. f.).

2.3 ESTRUCTURA ORGANIZATIVA

El organigrama lo encabeza el consejo directivo nacional, compuesto por algunos ministerios como el de educación, Industria, Comercio, Turismo y de Protección Social y se desglosa hasta las dependencias regionales, Figura 1.

2.4 DESCRIPCIÓN DEL DEPARTAMENTO DONDE SE REALIZÓ LA PASANTÍA

El SENA se divide en regionales que tiene características y funciones que se acoplan a las necesidades de cada región.

En el departamento del Huila sur está el Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano Pitalito Huila. Su función es la de impartir formación profesional integral utilizando la metodología de competencias laborales, proyectos y técnicas didácticas activas a las personas y empresas industriales del departamento.

El Tecnoparque Agroecológico Yamboró hace parte del Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible. Está ubicado en la zona rural noroccidental del municipio de Pitalito sobre la vereda Aguadas del corregimiento de Chillurco a una distancia de 7,28 km del perímetro urbano y al sur del departamento del Huila, entre las cordilleras central y oriental.

Su altura sobre el nivel del mar, oscila entre 1.298 y 1.330 msnm y sus coordenadas geográficas son 1°53'28"N – 76°05'25"W («Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano», s. f.).

Es uno de los 16 Tecnoparques del país; en la regional Huila están tres de ellos disponibles para el desarrollo tecnológico, la innovación y el emprendimiento. En el Tecnoparque Yamboró están el único Laboratorio de Biodiversidad en Pitalito y el único Laboratorio de Nanotecnología en el país («Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano», s. f.).

Figura 1. Organigrama Nacional del SENA

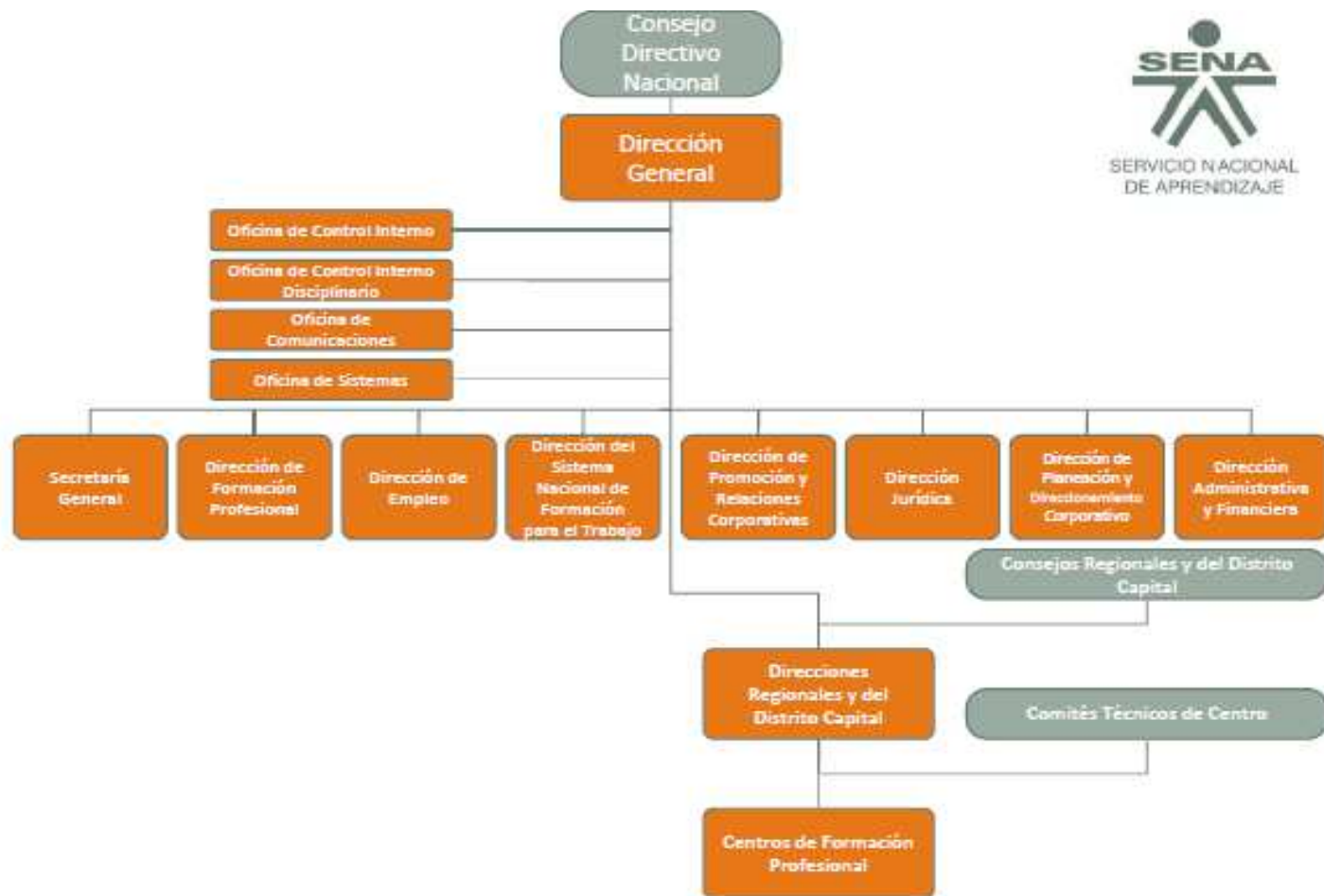
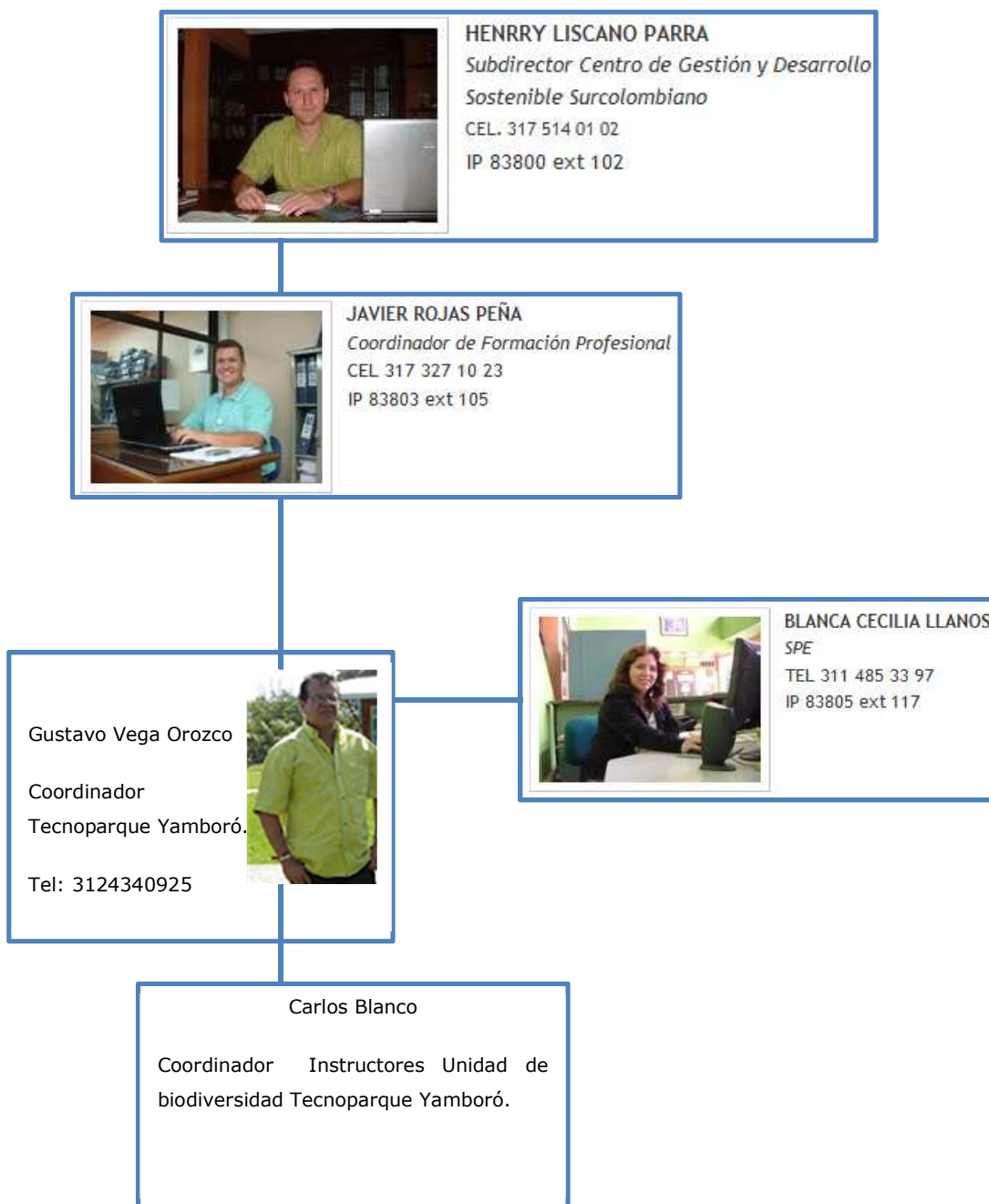


Figura 2. Diagrama de jerarquías académica



3. RECUENTO ANALITICO DEL CARGO OCUPADO DENTRO DE LAS ACTIVIDADES DE PASANTÍA

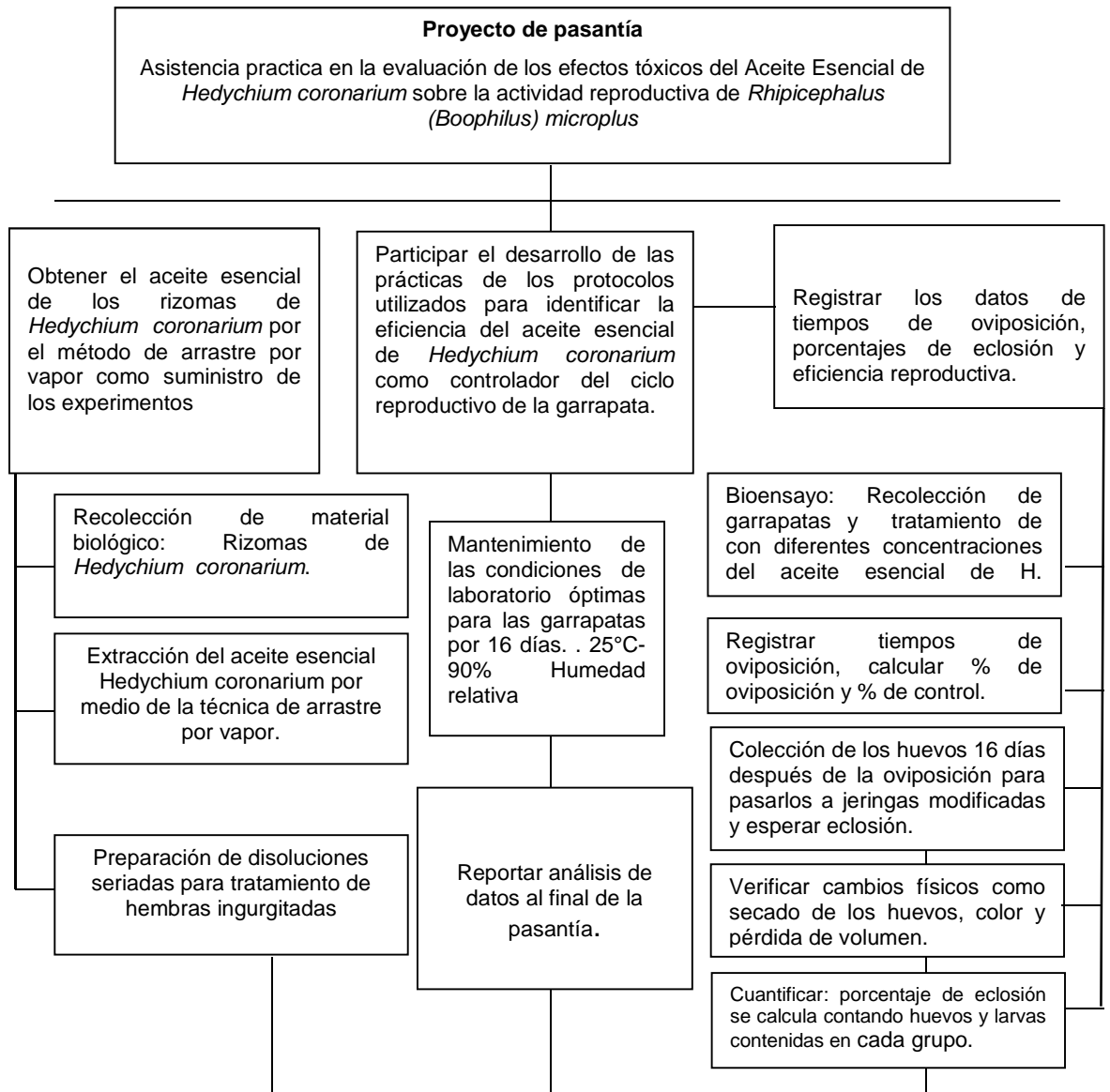
A lo largo de toda la pasantía el trabajo estuvo supervisado por la Instructora Martha Adriana Peña, asignada por el SENA como Director Empresarial. Sin embargo, gocé de total independencia para la implementación de la metodología y manejo en campo y laboratorio.

Bajo mis responsabilidades como pasante universitaria estuvo a mi disposición el laboratorio de control biológico y de biodiversidad para realizar las actividades programadas, donde se incluye el manejo de equipos y reactivos.

4. DESCRIPCION DE LAS ACCIONES, ACTIVIDADES Y LOGROS

Las actividades que permitieron cumplir los objetivos propuestos en el proyecto de pasantía, se presentan a continuación en una estructura desagregada (Figura 3).

Figura 3. Actividades desarrolladas en la pasantía



4.1 DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES PARA CUMPLIR CON LOS OBJETIVOS DE LA PASANTÍA

Las actividades se diseñaron para desarrollar dos ensayos de prueba del aceite esencial de *Hedychium coronarium*, sobre Teleoginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

En el primer ensayo que se denominó “Concentraciones bajas” (CB), se trataron grupos de garrapatas con soluciones de aceite esencial al 12.5%, 6,25%, 3,75% y un control negativo.

Para el segundo que se denominó “Concentraciones altas” (CA), los tratamientos de aceite esencial fueron al 100%, 75%, 50%, 25%, control positivo y negativo.

4.1.1 Diseño de la metodología. Al inicio de las actividades de pasantía fue necesaria la presentación de una propuesta metodológica sobre el desarrollo de los ensayos. Así, se propuso la siguiente guía que se implementó para el experimento biológico.

4.1.2 Obtención y manejo del material vegetal. El material vegetal se colectó manualmente, adecuó y se procesó en la planta de extracción para obtener el aceite esencial, de la siguiente forma:

Recolección de rizomas: Las colectas botánicas se realizaron sobre la rívera de la cuenca de la quebrada “El Maco”, vereda aguadas, jurisdicción del Tecnoparque Agroecológico Yamboró. Se escogieron las plantas con mayor desarrollo vegetativo. A lo largo de los ensayos se colectaron 68.1 Kg.

Adecuación del material vegetal: El material se lavó y se dejó secar a temperatura ambiente por un periodo de tres días. Luego se acondicionó en trozos pequeños para la obtención del aceite esencial (figura 4).

Figura 4. Acondicionamiento del material vegetal



Identificación taxonómica y muestra para herbario: La identificación taxonómica se efectuó en el Herbario de la Universidad del Cauca (Popayán, Cauca). Allí quedó una muestra permanente de la planta, bajo el código de registro 11 y colectores E, Paz y F. Plazas (Figura 5).

Manejo del aceite esencial de *Hedychium coronarium*: Los Aceites Esenciales (AE), son fracciones volátiles producto de material vegetal (Sharapin, 2000). Para obtener el AE de *Hedychium coronarium*, se utilizó la técnica de arrastre por vapor utilizando la planta de destilación extractora de aceites esenciales marca JM ESTRADA (Figura 6), con un sistema de generación de vapor: calderín de 3 HP, presión máxima de trabajo 15 PSI, tanque de extracción en acero inoxidable 304 con capacidad de 296 L del Tecnoparque Agroecológico.

Se realizó el control sobre las variables: presión de vapor, tiempo de extracción, distribución del material vegetal para optimizar el área de contacto y el rendimiento del proceso.

Figura 5. Muestra testigo de *Hedychium coronarium* J. Koenig para herborizar.

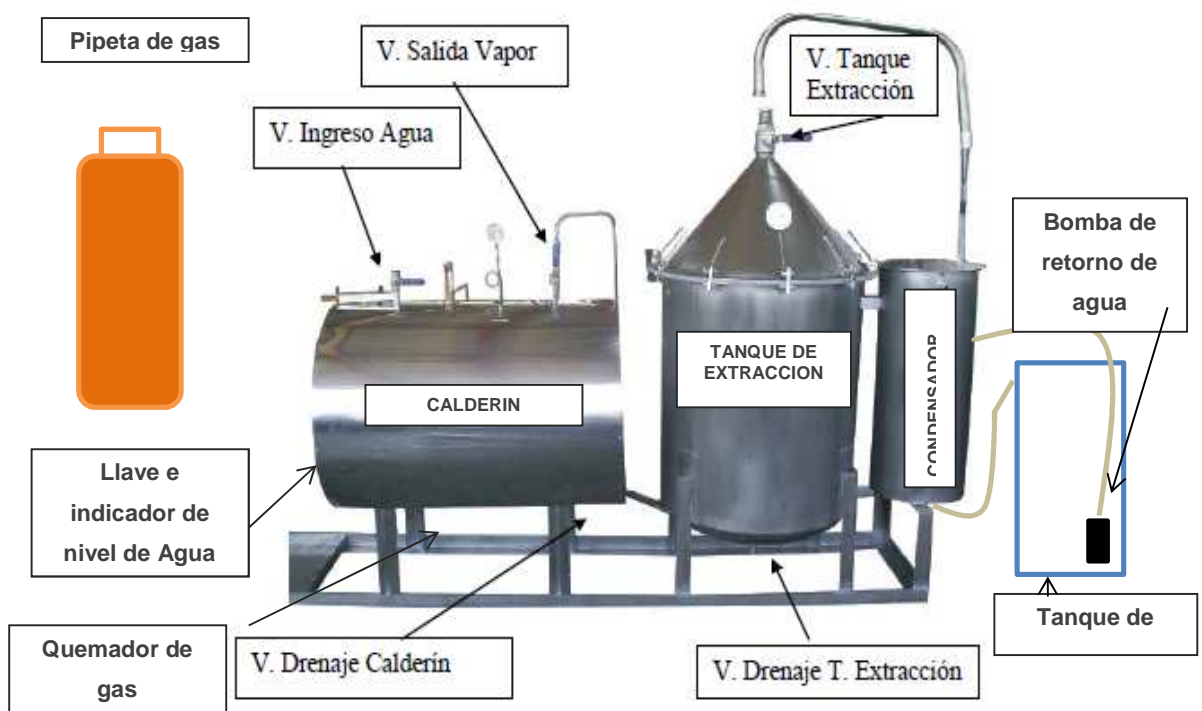


4.1.3 Obtención y selección de garrapatas del ganado. Para los dos ensayos se colectaron hembras ingurgitadas de diferentes fincas cercanas al municipio de Pitalito, sin embargo, para el primer ensayo se colectaron garrapatas que no presentaran resistencia a ningún garrapaticida comercial, al contrario de la población de garrapatas utilizadas en el segundo ensayo.

Localización y condiciones para el muestreo: Se colectaron garrapatas de ganado de ambos sexos, infestados de forma natural y con un mínimo de 30 días después del último tratamiento con algún garrapaticida.

Para el primer ensayo se colectaron garrapatas de la vereda “La Gaitana”, Municipio de San Agustín. Para el segundo ensayo se ubicaron predios rurales, cercanos al municipio de Pitalito.

Figura 6. Planta de extracción de Aceites esenciales por la técnica de arrastre por vapor



Colecta de hembras ingurgitadas: Para localizar las garrapatas, se pasó la mano suavemente sobre las diferentes partes del hospedero: región mamaria, patas, ancas, abdomen, axilas, cuello y cabeza.

Se retiró cada garrapata manualmente con los dedos índice y pulgar, agarrándola lo más cerca posible del capítulo y llevándola hacia arriba en contrapelo para evitar dañar el hipostoma (Figura 7).

Figura 7. Colecta de Garrapatas







Las teleoginas o hembras ingurgitas fueron colectadas en un frasco acrílico transparente, de boca ancha recubierta con gasa para facilitar el flujo del aire y llevadas al laboratorio de Biodiversidad del Tecnoparque 7 Agroecológico Yamboró, SENA Pitalito.

Identificación taxonómica: Para este procedimiento se usaron las claves Osorno Mesa, 1941 y Faccioli, 2011, para la familia *Ixodidae*. Para el género y especie se usaron Caeiro, 2006, Benavides, s. f y Solari, 2006 (Figura 8).

Figura 8. Identificación taxonómica de la garrapata utilizada en los ensayos

Familia <i>Ixodidae</i>		Tegumento endurecido formando el escudo en la porción anterior en la hembra, visible dorsalmente.
----------------------------	---	---

<p>Género <i>Rhipicephalus spp</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> • Rostro corto • Base del capítulo hexagonal • Presencia de ojos • Escudo sin ornamentación
<p>Género <i>Rhipicephalus spp</i></p>		<p>Ausencia de festones</p>
<p><i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> • Palpos cortos y crestados. • Dentición 4/4
<p><i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i></p>		<p>Coxa I ligeramente bífida</p>

Acondicionamiento y desinfección. Una vez verificada la especie, se eliminaron las garrapatas muy pequeñas o muy grandes, deformes o con pérdida de hipostoma, patas o palpos.

Las teleoginas fueron lavadas con una solución de hipoclorito sódico al 1%, por 1 minuto, para prevenir contaminación por hongos o bacterias (Echeverri *et al.*, 2007), (Martins *et al.*, 2007). Se pasaron por un colador para retirar el exceso de la solución y luego por una toalla de papel. Luego se pesaron en grupos de diez.

Tratamientos, repeticiones y manejo en laboratorio: Para los ensayos, las hembras ingurgitadas fueron pesadas y divididas en grupos de 10 para formar muestras homogéneas, de tal manera que no existiera diferencia en el peso de más de 20 mg (Álvarez *et al.*, 2008).

Para los bioensayos se utilizó la prueba de inmersión de adultas (PIA) descrita y desarrollada por Drummond, Ernst, Trevino, Gladney, y Graham, 1973.

Cada grupo fue sometido a inmersión por cinco minutos, en soluciones de aceite esencial en varias concentraciones, teniendo como solvente agua y tween 80 al 2%, como tensoactivo (Figura 9).

Figura 9. Inmersión de teleoginas según la metodología de Drummond (1967).



Para el primer ensayo (Concentraciones Bajas), se evaluaron cuatro tratamientos: 12.5%, 6,25%, 3,75% v/v y un control negativo con solo tween y agua. Cada tratamiento tuvo dos repeticiones.

Para el segundo ensayo (Concentraciones altas), se evaluaron cinco tratamientos: 100%, 75%, 50% y 25% v/v de aceite esencial, un control negativo con solo tween y agua y un positivo con "Impacto", un garrapaticida comercial de la casa comercial Ourofino. Cada tratamiento tuvo tres repeticiones.

Tratadas las garrapatas, fueron colocadas en cajas de Petri en posición dorsal sobre cinta adhesiva (figura 12), de tal manera que la base del capítulo quedara libre y al borde de la cinta, para facilitar luego la recolección de los huevos (Gallardo y Morales, 1999).

Figura 10. Distribución de las teleoginas en cajas de Petri para facilitar la colecta de huevos.

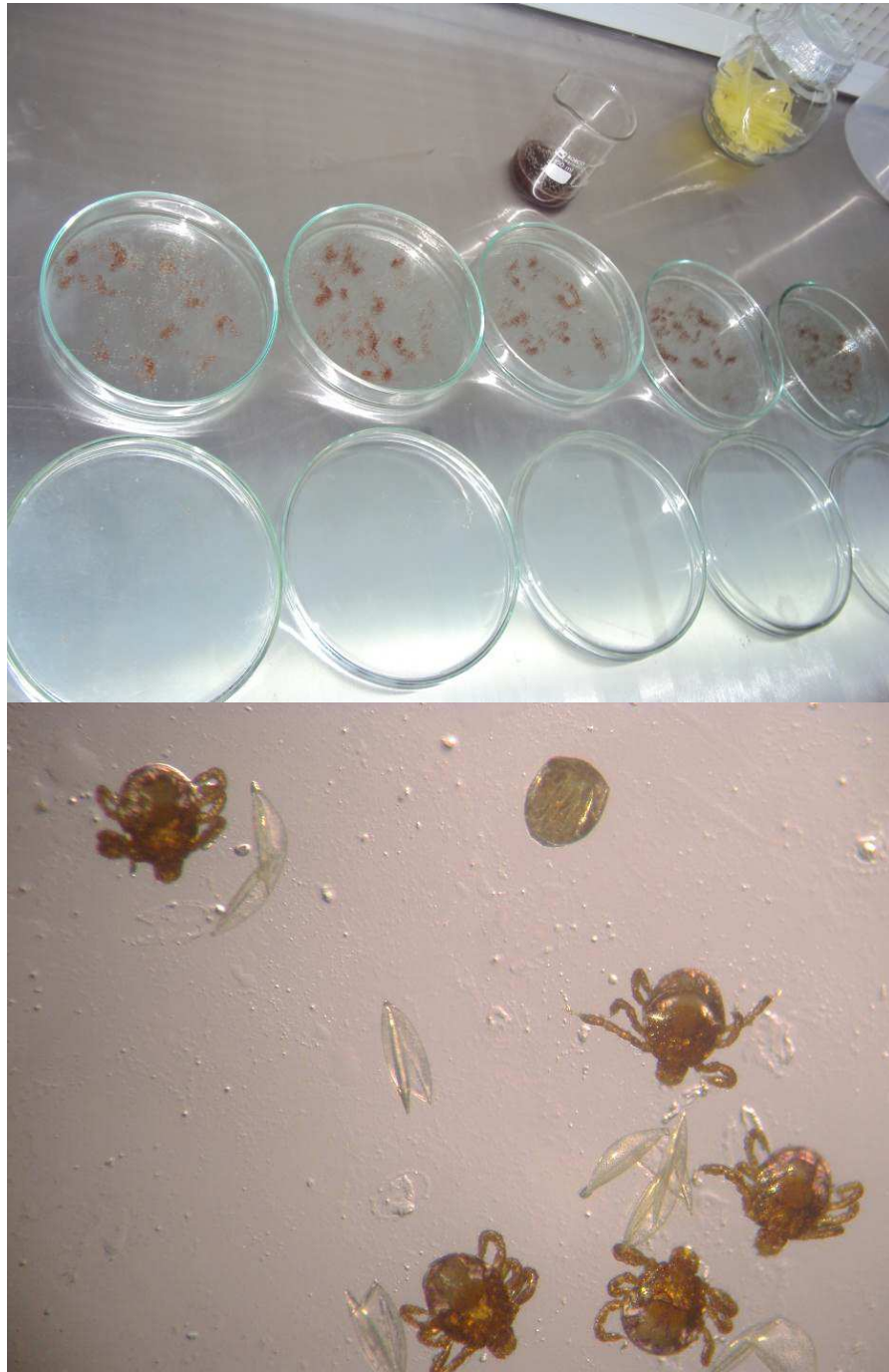


Concluido el acondicionamiento, las garrapatas fueron llevadas a la incubadora a 28°C y 90% de humedad relativa, condiciones óptimas para su desarrollo (Arguedas *et al.*, 2008).

Colecta de Huevos: A lo largo de los ensayos, se registró el inicio de la oviposición y la vitalidad de los huevos. Pasados 15 días, los huevos de las hembras que ovipositaron, se pesaron y se recogieron en jeringas modificadas para prevenir diseminación de larvas al momento de la eclosión (figura 11), allí permanecen otros quince días en las mismas condiciones anteriormente mencionadas. Luego se sacrificaron con calor.

Cuantificación de huevos y cascarones: Para el conteo de huevos y cascarones fue necesario tomar cinco alícuotas de cada repetición. Para esto se homogenizó el contenido de cada jeringa con alcohol al 96%, a razón 0.1 g / ml. De esta

Figura 12. Conteo de cascarones y huevos de garrapatas



4.1.4 Análisis y resultados. Los siguientes parámetros biológicos fueron observados:

- Peso de hembras tratadas
- Peso de huevos por cada tratamiento
- Porcentaje de eclosión
- Porcentaje de inhibición de la ovoposición
- Porcentaje de eficiencia del producto

Con los datos del peso de garrapatas y huevos, se determinó el porcentaje de inhibición de la oviposición, aplicando:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Inhibición Oviposición} \\ & = \left\{ \frac{\text{Peso de Hembras del lote tratado}}{\text{Peso de Hembras lote control}} - \frac{\text{Peso de huevos lote tratado}}{\text{Peso de huevos lote control}} \right\} \times 100 \end{aligned}$$

Se calculó el porcentaje de eclosión por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Eclosión} = \frac{\text{Cascares}}{\text{Huevos} + \text{cascares}} \times 100$$

Para determinar el porcentaje del control, se calculó la reproducción estimada, así:

$$\text{Reproducción estimada} = \frac{\text{Peso de Huevos}}{\text{Peso de Hembras}} \times \% \text{ Eclosión}$$

Se calculó la reproducción estimada de los lotes tratados y el control, para luego calcular los porcentajes de control como sigue:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Control} \\ & = \frac{\text{Reproducción estimada lotes testigo} - \text{Reproducción estimada lotes tratados}}{\text{Reproducción estimada lotes testigo}} \end{aligned}$$

Para los dos ensayos, los datos fueron almacenados y analizados en el programa estadístico SPSS (Statistical Product and Service Solutions), versión 11.5.1, utilizando el análisis de varianza univariada y la prueba Kruskal-Wallis.

En la tablas 1 y 2 se registran las variables de respuestas: porcentajes de inhibición de la oviposición, porcentajes de eclosión, peso de huevos y eficiencia del producto, para el primer ensayo y segundo ensayo respectivamente, analizadas con la prueba *Kruskal-Wallis*.

Tabla 1. Medias \pm desviación típica, del peso de huevos, porcentaje de inhibición, porcentajes de eclosión y eficiencia del producto en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, tratadas con aceite esencial de *Hedychium coronarium*, en el ensayo “Concentraciones bajas” (CB)

Tratamientos (%)	Peso de huevos (g)	Inhibición de la oviposición (%)	Eclosión (%)	Eficiencia del producto (%)
Control negativo	1,5335 \pm 0,149	-	95,0917 \pm 0,0	-
3,75	1,1110 \pm 0,127	0,6802 \pm 1,178	88,0404 \pm 0,0	6,0031 \pm 3,628
6,25	0,7360 \pm 0,658	36,1015 \pm 8,963	81,9370 \pm 0,0	50,5202 \pm 6,729
12.5	0,8240 \pm 0,139	39,1401 \pm 6,467	75,7810 \pm 0,0	53,9832 \pm 6,486
Sig. Asintót.	0,22*	0,028*	0,012*	0,020*

* Significancia determinada mediante la prueba No paramétrica de K-W

Tabla 2. Medias \pm desviación típica, del peso de huevos, porcentaje de inhibición, porcentajes de eclosión y eficiencia del producto en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, tratadas con aceite esencial de *Hedychium coronarium*, en el ensayo “Concentraciones altas” (CA)

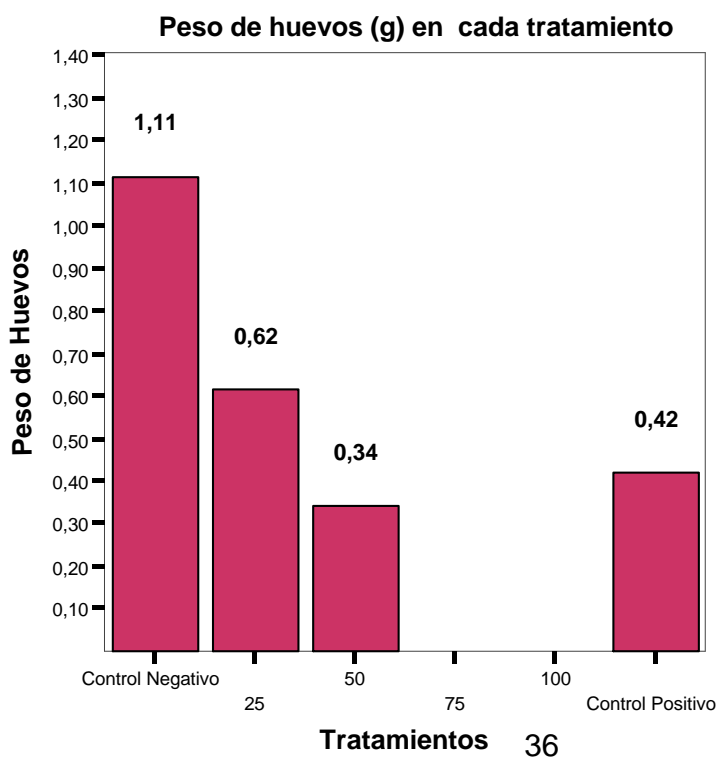
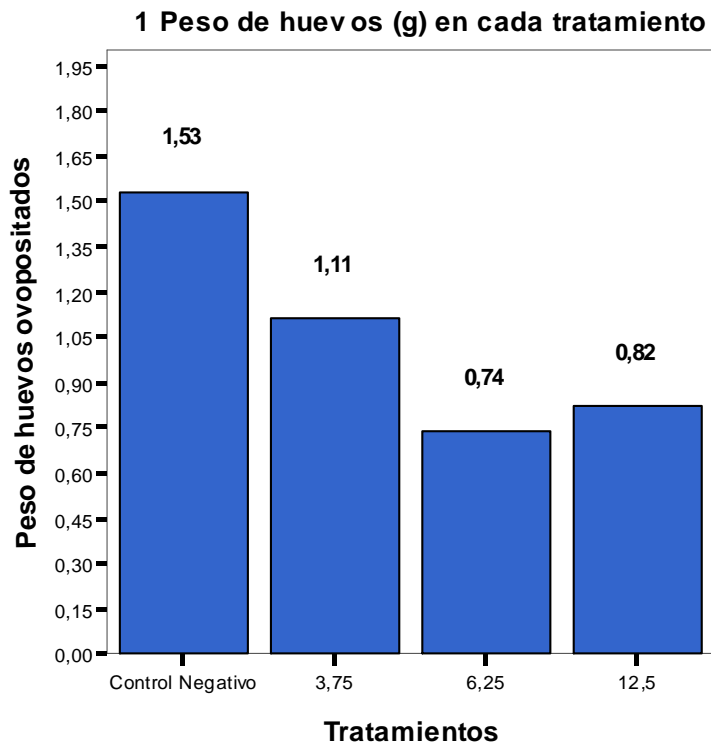
Tratamientos (%)	Peso de huevos (g)	Inhibición de la oviposición (%)	Eclosión (%)	Eficiencia del producto (%)
Control negativo	1,1148 \pm 0,143	0	89,4561 \pm 4,026	0
25	0,6164 \pm 0,073	37,8293 \pm 6,455	61,5761 \pm 4,325	59,3889 \pm 5,084
50	0,3427 \pm 0,082	55,2061 \pm 8,146	48,5599 \pm 13,56	80,1110 \pm 8,153
75	0	100 \pm 0,000	0	100 \pm 0,000
100	0	100 \pm 0,000	0	100 \pm 0,000
Control Positivo	0,4205 \pm 0,124	72,5693 \pm 2,873	11,8115 \pm 0,490	94,8039 \pm 1,353
Sig. Asintót.	0,001*	0,000*	0,000*	0,000*

* Significancia determinada mediante la prueba No paramétrica de K-W

Peso de huevos: La cantidad de huevos en las garrapatas, indica que un buen número de descendientes puede desarrollarse sin cuidados parentales. Por eso, disminuir la cantidad de huevos en la postura de cada hembra, sirve como control en el ciclo reproductivo de la garrapata.

En este caso, el peso de los huevos en cada tratamiento, disminuyó al aumentar la concentración del aceite esencial de *Hedychium coronarium* (Figura 13).

Figura 13. Peso de huevos en los ensayos “Concentraciones bajas” y “Concentraciones altas”

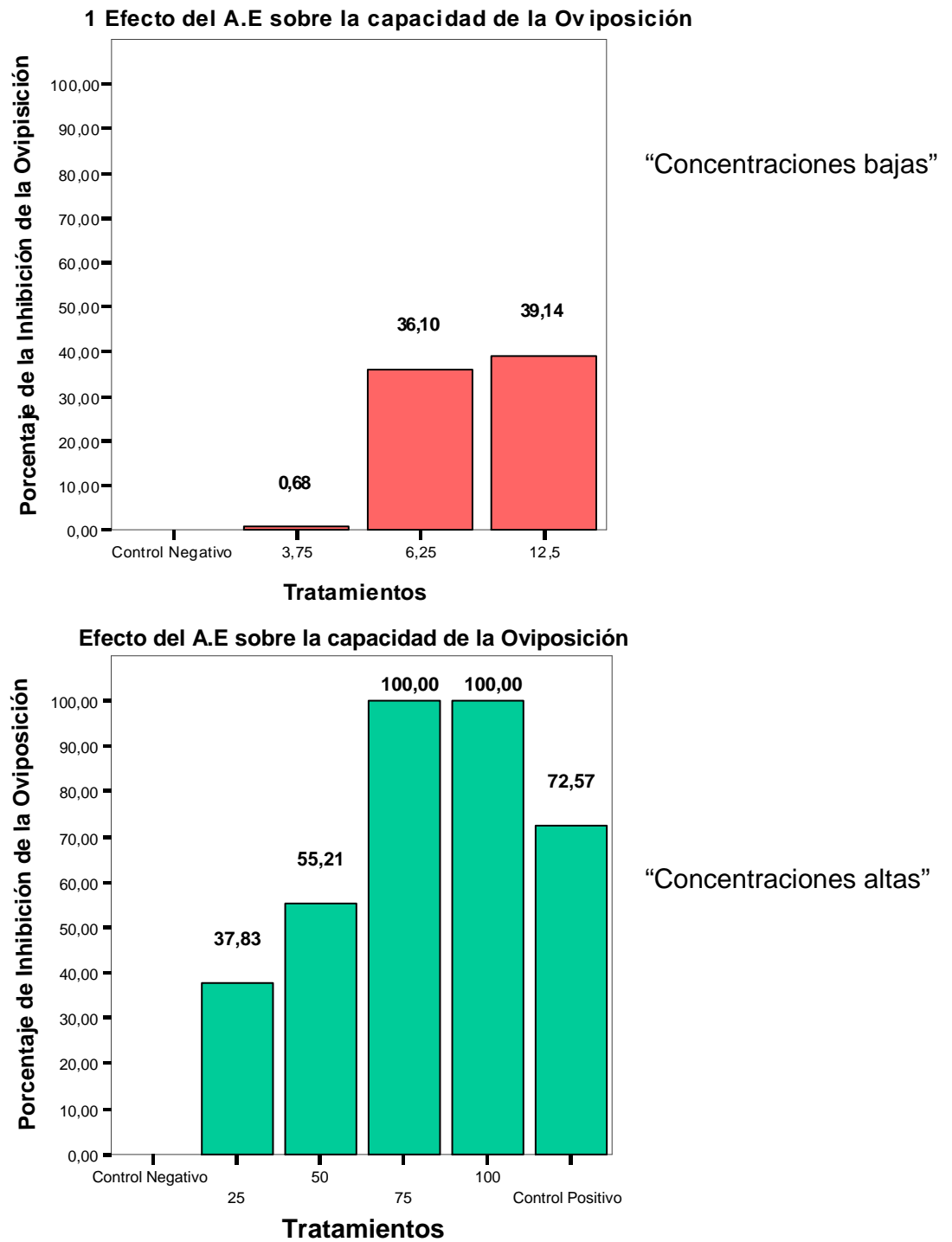


Porcentaje de inhibición. Los porcentajes de inhibición de la oviposición en los dos ensayos (figura 14), mostraron que: al aumentar la concentración del aceite esencial se observa una tendencia a la disminución de la cantidad de huevos que ovipositan las hembras tratadas con el Aceite esencial de *Hedychium coronarium*; por tanto, inhiben la capacidad ovipositora, con una diferencia significativa ($p < 0,05$), sin embargo, en el ensayo 1, cuando se compara la concentración más baja (3,75%) con el control negativo, el porcentaje de inhibición es muy bajo y la diferencia es no significativa ($p > 0,05$) (Anexo 1. Prueba de Mann-Whitney), lo que quiere decir que la concentración al 3,75% del aceite esencial de *Hedychium coronarium*, no es un buen control si lo que se quiere es inhibir la postura de huevos de garrapatas.

Las concentraciones 6,25% y 12,50% del ensayo CB y 25%, 50%, 75% y 100% del ensayo CA, se muestran como tratamientos promisorios en la reducción de la postura de huevos, con significación estadística ($p < 0,05$), especialmente los tratamientos al 75% y 100%, teniendo en cuenta que estas concentraciones son letales para las hembras de *R. (Boophilus) microplus* (anexo 1).

El tratamiento con control positivo, no mostró mortalidad, lo que da cuenta de un proceso de resistencia a los compuestos acaricidas del producto comercial. Sin embargo, dos concentraciones del aceite esencial (75%, 100%), sí fueron eficientes en la mortalidad. Esto muestra la efectividad en el control de poblaciones, que han experimentado resistencia.

Figura 14. Capacidad ovipositora de las hembras tratadas con aceite esencial de *Hedychium coronarium* J. Koenig, evaluada para los dos ensayos.



Porcentaje de eclosión. La eclosión se redujo a medida que aumentó la concentración, en los dos ensayos.

En el ensayo CB, la concentración más alta (12.5%) no alcanza el 50% en la reducción de la eclosión. En el ensayo CA, las hembras tratadas a la concentración 50% de aceite esencial, reducen la fertilidad de los huevos tan solo hasta un 48,56%. Las concentraciones al 75% y 100% de aceite mostraron mortalidad y reducción en la eclosión en un 100% (Figura 15).

Reproducción estimada (R.E). Los parámetros de oviposición y eclosión son determinantes en la capacidad reproductiva de la garrapata. La R.E relaciona dichos parámetros y estima cual será la reproducción para determinadas condiciones.

Para los dos tratamientos, se reduce la reproducción a medida que aumenta la concentración del A.E (Figura 16).

Eficiencia del producto. La eficiencia del AE en el control de la reproducción de la garrapata del ganado (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), se relaciona con la disminución de los parámetros de Oviposición y eclosión y el aumento de la concentración del A.E (Figura 17).

El control del ciclo se demuestra en los dos ensayos, sin embargo el control en el ensayo CA está por encima del 50% hasta un 100%.

Figura 15. Porcentajes de inhibición de la oviposición, según concentración de aceite esencial.

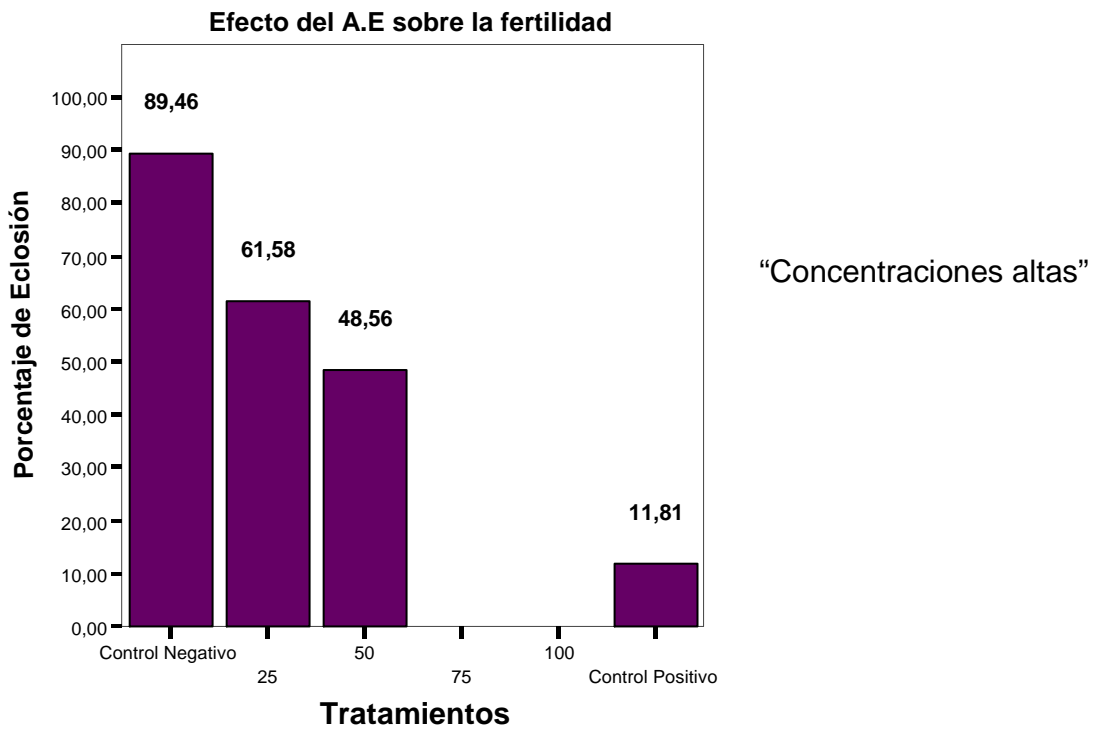
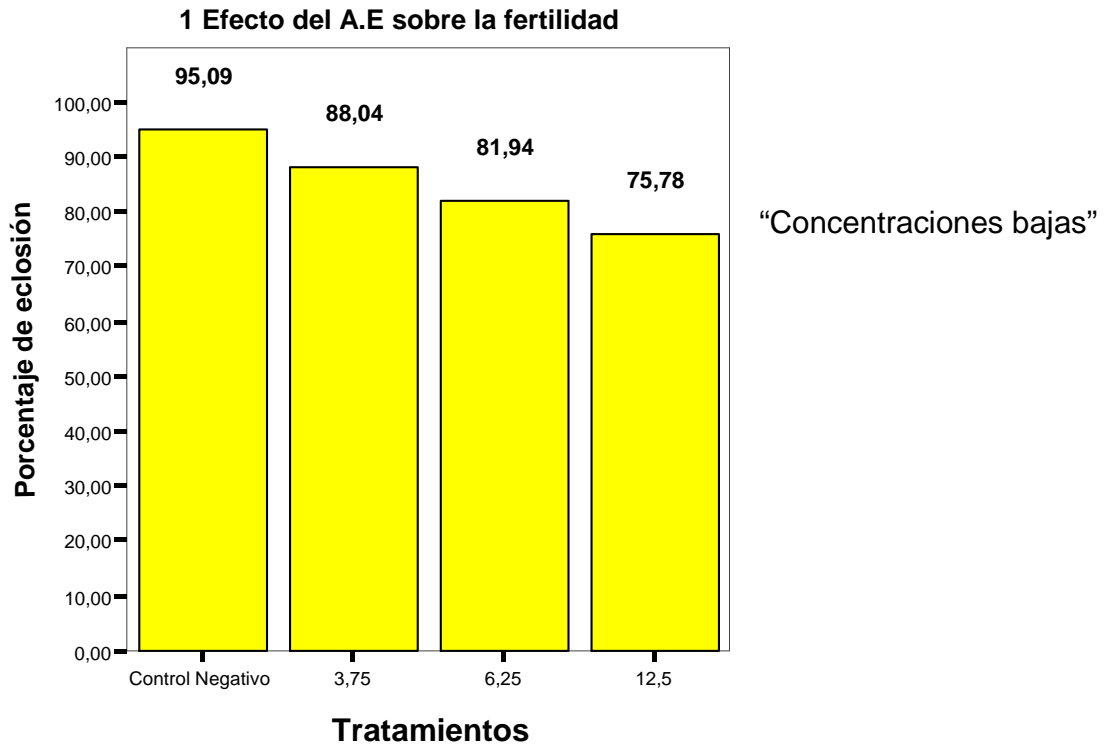


Figura 16. Reproducción estimada de las garrapatas tratadas con aceite esencial de *Hedychium coronarium*.

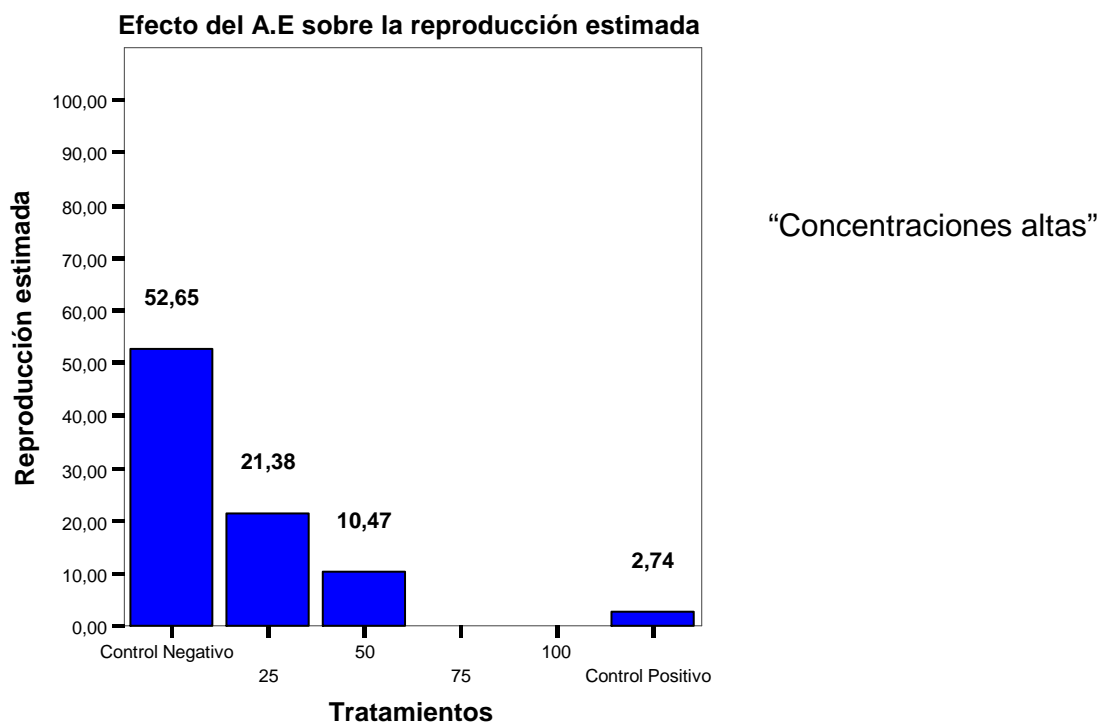
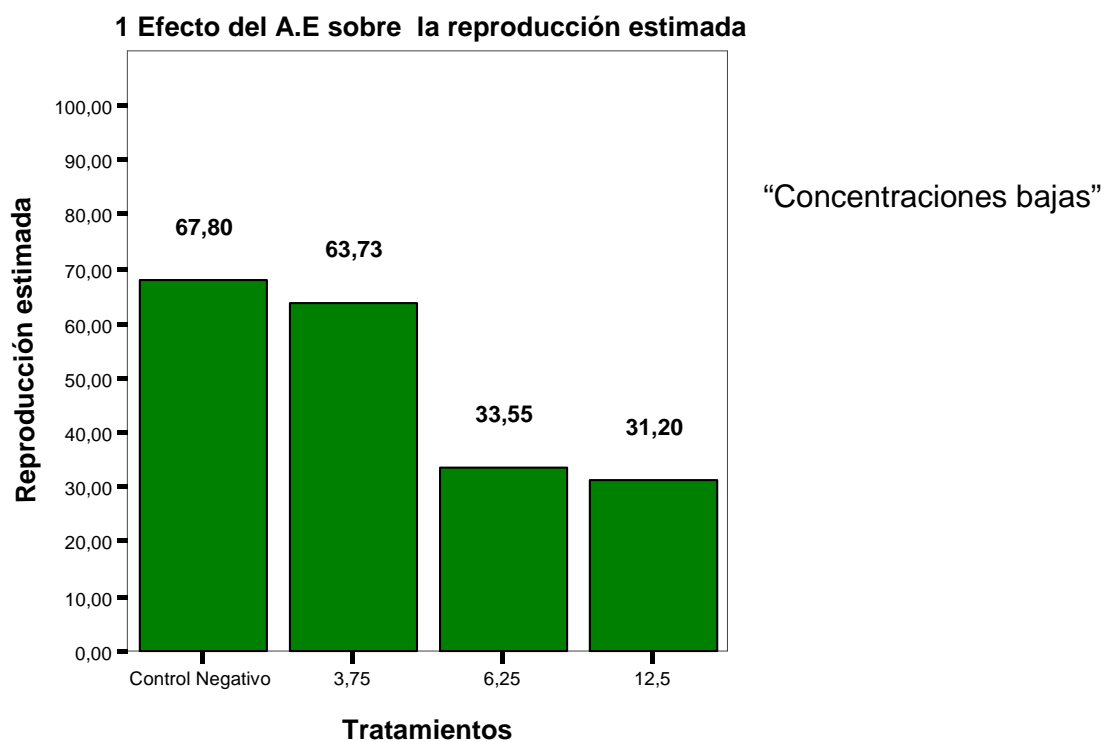
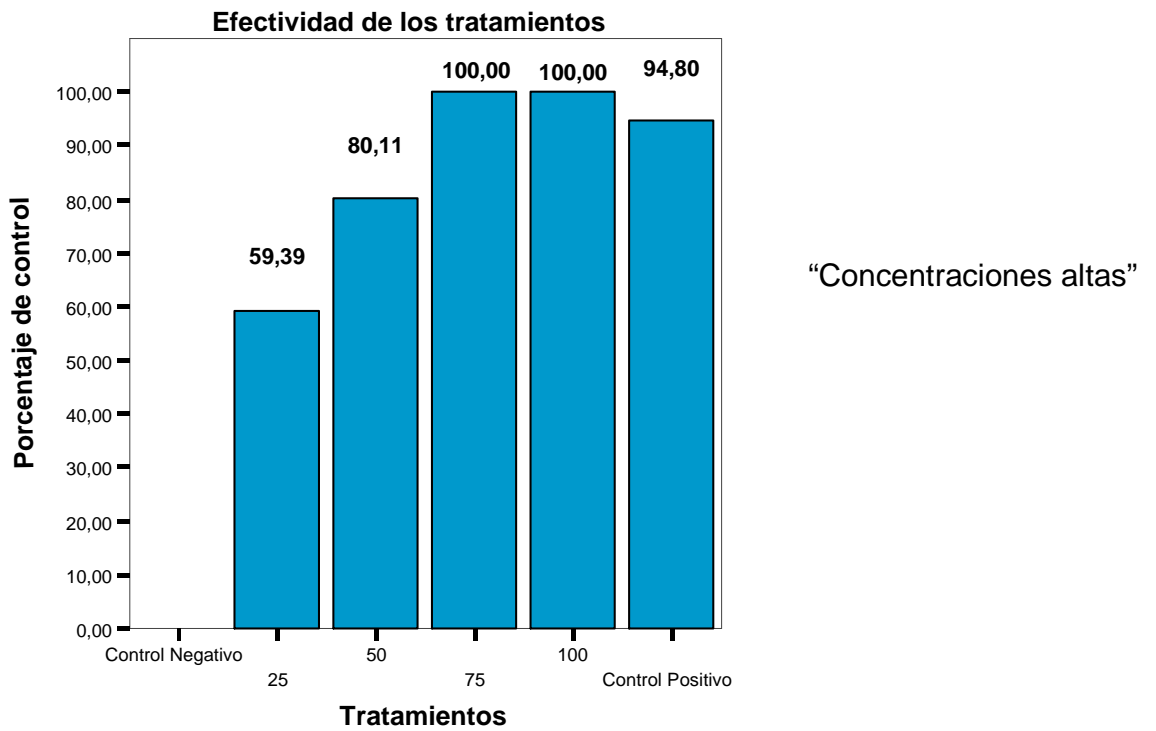
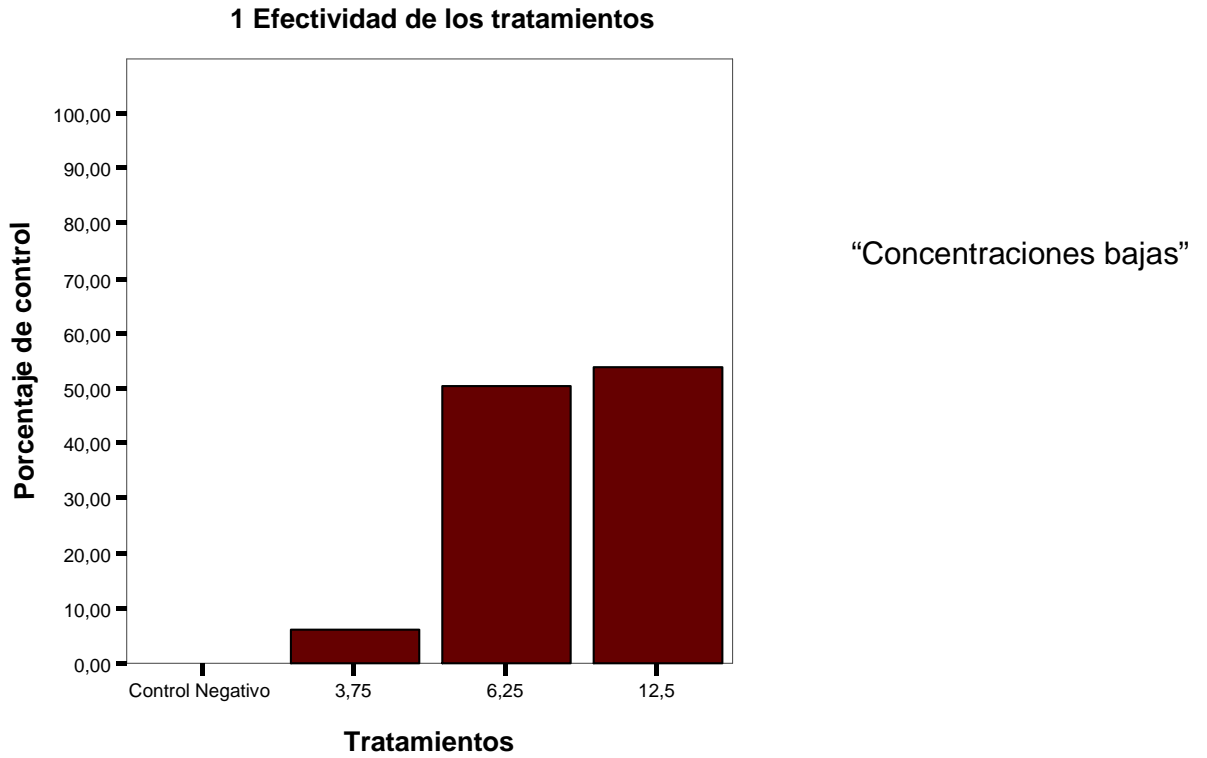


Figura 17. Eficiencia del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre el control de la garrapata común del ganado



El Aceite esencial de *Hedychium coronarium* es un acaricida con buenas posibilidades de uso en el control de la garrapata común del ganado, especialmente en fincas de ganado para leche, donde los tratamientos de baños no sean efectivos y no cuenten con instalaciones adecuadas para el tratamiento de la garrapata.

Teniendo en cuenta las políticas del control integrado de plagas, los tratamientos que no erradique las garrapatas en su totalidad, también son importantes, ya que otros organismos utilizan a las garrapatas en su dieta, como es el caso de aves, ratones, sapos, arañas, hormigas, insectos y el uso indiscriminado de acaricidas puede alterar este equilibrio (Martins y Gonzalez, 2007). Las concentraciones 3,75%, 6,25%,12,5% del primer experimento y 25%, 50% del segundo experimento, han mostrado reducción en la reproducción estimada hasta de un 10,47% y una reducción en la fertilidad de huevos hasta en un 52%, pero no mortalidad; sin embargo, las dos concentraciones más altas (75%, 100%) del segundo ensayo, sí.

Los beneficios de este tratamiento radican en la baja toxicidad expresada por las plantas y la fácil obtención del material vegetal, además, por reducir la contaminación ambiental, de las personas que manipulan el producto, de los productos lácteos y cárnicos.

4.2 ACTIVIDADES ADICIONALES COMPLEMENTARIAS

4.2.1 Elaboración de protocolos. Se redactaron tres guías relacionadas con el manejo del material vegetal para futuras extracciones de aceites esenciales.

- Guía práctica para la recolección y procesamiento del material vegetal en la extracción de aceites esenciales (Anexo 1).
- Guía operacional de la planta de destilación extractora de aceites esenciales por la técnica de arrastre por vapor (Anexo 2).

- Guía práctica para la recuperación de aceite esencial después de la extracción por arrastre por vapor, porcentaje de rendimiento y caracterizaciones físicas iniciales.

4.2.2 Montaje del ensayo para la evaluación letal del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Para este ensayo se utilizó la prueba de paquete larval propuesta por Leite, 1988. Consiste en empaquetar 100 Larvas de garrapatas aproximadamente en papel de filtro impregnado con 0,4 ml de la sustancia a evaluar (Figura 13).

Se prepararon 6 soluciones de aceite esencial de *H. coronarium*, agua destilada y tween 80 (2%) al 100%, 75%, 25%, 12.5%, 6,25% y 3,75%, y fueron usados como tratamientos sobre larvas. También se implementó el tratamiento control negativo con agua y tween 80. Cada tratamiento tuvo cuatros repeticiones.

Después de 24 horas se contaron cuantas larvas sobrevivieron al tratamiento y cuantas no.

Figura 18. Evaluación de la actividad biocida del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre larvas de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.



4.2.3 Participación a evento de Divulgación Tecnológica. Asistencia a la capacitación en Nanotecnología aplicada a la caracterización del grano de café a partir de su morfología, que se dictó los días 17, 18, 19, 20 y 21 de septiembre de 2012 en el TECNOPARQUE, con una duración total de 40 (Horas).

La finalidad de esta actividad fue obtener resultados cuantitativos que permiten caracterizar la calidad del grano de café a partir de su morfología. También, la generación de protocolos de la operatividad de los equipos, la preparación de las muestras y la técnica para el análisis de morfología en biomateriales sólidos.

Temas tratados:

- Transferencia de conocimientos en microscopia de barrido, levantamiento de protocolos de operación para barrido de Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) en muestras sólidas.
- Realización de práctica de montaje y desmontaje de puntas, manejo de software, interpretación de parámetros de rugosidad superficial y lineal en materiales orgánicos sólidos.
- Levantamiento, demostración, transferencia de protocolos en la preparación de muestras solidas orgánicas, que serán sometidas a observación en microscopia de fuerza atómica.
 - corte
 - limpieza.
 - seguridad.
 - precauciones.
 - calidad de barrido
 - tópicos de identificación en funcionamiento.
 - parámetros característicos.
 - ubicación espacial y temporal en la muestra.
 - identificación de zonas de baja rugosidad.

- Análisis de parámetros de rugosidad en diferentes granos de café con diferentes procedencias, calidad y proceso conocido.

-análisis y barrido de 30 muestras de granos de café de baja calidad.

-análisis y barrido de 30 muestras de granos de café de alta calidad.

-análisis y barrido de 30 muestras de granos de calidad desconocido.

-análisis y barrido de 30 muestras de granos de café sin proceso alguno (baja calidad).

-análisis y barrido de 30 muestras de granos de café sin proceso alguno (alta calidad).

- Usando microscopia de fluorescencia encontrar características paramétricas y espectrales de los materiales orgánicos del café en su estado natural. Para esto se realizan las observaciones pertinentes en:

-análisis y observación de 30 muestras de granos de café sin proceso alguno (baja calidad).

-análisis y observación de 30 muestras de granos de café sin proceso alguno (alta calidad).

- Sesión de discusión de resultados, documentación de procedimientos, levantamiento de datos, análisis de resultados, conclusiones de los procesos, generación de publicación del trabajo realizado y sus resultados, retroalimentación con instructores, aprendices y asesores de tecno parque.

5. APORTES DEL PRACTICANTE AL DESARROLLO DE LA INSTITUCIÓN

El resultado más importante fué con la proyección investigativa del Tecnoparque Agroecológica Yamboró, Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, el cual busca herramientas biosostenibles que promuevan el control de plagas que afectan las industrias del sector Surcolombiano principalmente.

La ejecución de las actividades de pasantía mostraron que el aceite esencial de *Hedychium coronarium*, es una buena posibilidad para ser usado como controlador de la reproducción de la garrapata del ganado bovino. Se muestra entonces, como una nueva alternativa natural, económica y de fácil acceso para todos.

6. RESULTADOS DEL DESARROLLO DE LA PASANTÍA

- Se agilizó y facilitó el trabajo en el proyecto macro *In Vitro* “Evaluación de los efectos biocidas del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”, a cargo de la Instructora Adriana Peña Torres, Química del área de Biodiversidad del SENA, Nodo Pitalito.
- Prestación de asistencia profesional en el desarrollo de la evaluación del aceite esencial de *Hedychium coronarium*, sobre la reproducción de la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.
- Diseño de la metodología para evaluar el efecto del aceite de *Hedychium coronarium*, sobre la actividad reproductiva de la garrapata del ganado.
- Colecta de material biológico necesario en el desarrollo de los ensayos.
- Extracciones del aceite esencial de *Hedychium coronarium* para el desarrollo de los ensayos.
- Colecta de garrapatas para montar dos ensayos sobre actividad reproductiva y obtención de larvas para ensayos de mortalidad.
- Identificación taxonómicamente del material biológico
- Monitoreo constante de las condiciones óptimas de las garrapatas en el laboratorio.
- Registro de los cambios en los indicadores de reproducción de las garrapatas, porcentaje de oviposición, de inhibición de la inhibición y efectividad del producto evaluado.
- Análisis estadístico de los datos arrojados por los dos experimentos.

7. ANALISIS DE LAS HABILIDADES Y DESTREZAS ADQUIRIDAS

Para desarrollar las actividades de pasantía fueron necesarios conocimientos prácticos y teóricos impartidos durante la formación profesional, como bióloga. En cada actividad fueron necesarios conceptos diferentes que hoy en día se han fortalecido.

En la siguiente tabla se relacionan las actividades realizadas en la pasantía y las habilidades y destrezas adquiridas con las mismas.

Tabla 3. Habilidades y destrezas adquiridas con las actividades de pasantía.

ACTIVIDADES DE PASANTÍA	HABILIDADES Y DESTREZAS ADQUIRIDAS
Diseño de la metodología	<ul style="list-style-type: none">• Manejo de bases de datos• Manejo del gestor de bibliografía, Zotero
Obtención del Aceite esencial de los rizomas de <i>Hedychium coronarium</i> por la técnica arrastre por vapor.	<ul style="list-style-type: none">• Tratamiento del material vegetal para obtención de aceites esenciales.• Manejo de claves para la identificación de Zingiberaceas.• Habilidad en el tratamiento y montaje de material para herborizar.• Manejo de condiciones y manipulación de la planta de extracción de aceites esenciales

<p>Manipulación, manejo y ensayo con garrapatas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Manipulación de garrapatas en campo y laboratorio. • Manejo de claves de identificación de ixódidos. • Reconocimiento de características morfológicas de ixódidos. • Preparación de soluciones en concentraciones seriadas. • Manutención de la humedad relativa por medio de soluciones de cloruro de sodio. • Manejo de la prueba de inmersión descrita por Drummond en 1973, para análisis de resistencia en ixódidos. • Fabricación de alícuotas para conteo de huevos y cascarones de garrapatas.
<p>Análisis estadístico</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Manejo del programa estadístico SPSS versión 11.5.1. • Interpretación de resultados estadísticos. • Elaboración de guías de laboratorio para aprendices SENA.
<p>Ensayo para la evaluación letal del aceite esencial de <i>Hedychium coronarium</i> sobre larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Obtención y manejo de larvas en laboratorio. • Manejo de la prueba de paquete para evaluar letalidad de larvas.
<p>Participación en evento de Divulgación Tecnológica</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Reconocimiento de equipos de alta tecnología. • Montaje de puntas y calibración (AFM) y fluorescencia FM y nanolitógrafo.

8. DISCUSION DE LOS RESULTADOS ALCANZADOS Y CUMPLIMIENTO DEL PLAN DE ACCIÓN

El proyecto *In Vitro* “Evaluación de los efectos biocidas del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, a cargo de la Instructora Adriana Peña Torres, Química del área de Biodiversidad del SENA Nodo Pitalito, tiene tres objetivos específicos:

- Establecer la mortalidad media de hembras ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sometidas al aceite esencial extraído de los rizomas de *Hedychium coronarium*.
- Evaluar los efectos del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre la reproducción de la garrapata común del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.
- Establecer la mortalidad media de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* sometidas al aceite esencial extraído de los rizomas de *Hedychium coronarium*.

Partiendo de este proyecto se formuló la pasantía denominada “Asistencia técnica profesional en la evaluación *In vitro*, del aceite esencial de *Hedychium coronarium* sobre la actividad reproductiva de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.”

Los objetivos de la pasantía fueron:

- Facilitar y agilizar las actividades programadas en la evaluación de los efectos tóxicos sobre la reproducción de la garrapatas bovinas (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) tratadas con el aceite esencial de *Hedychium coronarium*, extraído de los rizomas.
- Obtener el aceite esencial de los rizomas de *Hedychium coronarium* por el método de arrastre por vapor como suministro de los experimentos.

- Participar en el desarrollo de las prácticas de los protocolos utilizados para identificar la eficiencia del aceite esencial de *Hedychium coronarium*, como controlador del ciclo reproductivo de la garrapata.
- Registrar los datos de tiempos de oviposición, porcentajes de eclosión y eficiencia reproductiva.

En el tiempo pactado con la Institución y respetando el cronograma, se entregan resultados concretos y fieles al trabajo realizado, atendiendo las responsabilidades para dar cumplimiento a los objetivos, partiendo del compromiso de asistencia a las jornadas de trabajo y la dedicación en la búsqueda de referentes bibliográficos que aportaran en el diseño de la metodología.

El aceite esencial de *Hedychium coronarium* es un acaricida con buenas posibilidades de ser usado en pequeña fincas de ganado lechero, donde los tratamientos de baños no sean efectivos y no cuenten con instalaciones adecuadas para el tratamiento. Además para reducir la contaminación ambiental y del manipulador del lavado y de los productos lácteos y carnes.

En la parte investigativa el Tecnoparque Agroecológico Yamboró crece, teniendo en cuenta que, la metodología para la manipulación y evaluación acaricida está estandarizada. La posibilidad de buscar nuevas posibilidades de control de la garrapata está abierta, atendiendo a los criterios de sostenibilidad, lema del Tecnoparque.

Profesionalmente, la experiencia enriquece las competencias laborales en la carrera y la proyección a nuevos campos de investigación.

9. RECOMENDACIONES

Los resultados de este trabajo pueden ser usados para la implementación de un ensayo *In vivo*.

Para iniciar un tratamiento, lo ideal sería aplicar sobre el lomo y las patas de las semovientes soluciones de aceite esencial de *Hedychium coronarium* al 50%, 75% o 100%. Después de 15 días volver a aplicar el tratamiento.

Se considera necesario controlar el porcentaje de oviposición de las hembras que ya han caído a las pasturas y el porcentaje de eclosión de huevos y larvas, por eso se recomienda tratamiento a pasturas; sin embargo, para ello deberían hacerse pruebas sobre fitotoxicidad, para descartar efectos alelopáticos sobre pasturas.

Es necesario hacer una valoración de los costos de este tratamiento, para verificar viabilidad económica al momento de hacer una transferencia tecnológica con pequeños propietarios de ganado.

No se debe desechar la posibilidad de evaluar extractos acuosos u alcohólicos de los rizomas de la *Hedychium coronarium* u otras partes de la planta, como fuentes de tratamientos de la garrapata, partiendo de que puede resultar efectivo y más económico en el proceso de obtención de los extractos.

Por otro lado, se deben aprovechar las propiedades biocidas de los componentes de la especie *Hedychium coronarium* en la implementación de nuevos ensayos, en busca de controlar otras plagas como la broca del café (*Hypothenemus hampei*).

10. REFERENTE BIBLIOGRAFICO

- Álvarez, V., Loaiza, J., Bonilla, R., & Barrios, M. (2008). Control in vitro de garrapatas (*Boophilus microplus*; Acari: Ixodidae) mediante extractos vegetales. *Revista de Biología Tropical*, (1), 291–302.
- Arguedas, M., Álvarez, V., & Bonilla, R. (2008). Eficacia del hongo entomopatógeno *Metharrizium anisopliae* en el control de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Agronomía Costarricense*, (002), 137–147.
- Bellgard, M. I., Moolhuijzen, P. M., Guerrero, F. D., Schibeci, D., Rodríguez-Valle, M., Peterson, D. G., Dowd, S. E., et al. (2011). CattleTickBase: An integrated Internet-based bioinformatics resource for *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *International journal for parasitology*. Recuperado a partir de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751911002815>
- Caeiro, V. (2006). Reflexão sobre a taxonomia actual dos Ixodidae. A sistemática morfológica versus sistemática molecular—o género *Rhipicephalus* eo género *Boophilus*. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 101(37-39), 557–558.
- Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano: SENA EMPRESA UN MODELO DE SIMULACION EXITOSO. (s. f.). *Centro de Gestión y Desarrollo Sostenible Surcolombiano*. Recuperado a partir de <http://senasurhuila.blogspot.com/2008/04/sena-empresa-un-modelo-de-simulacion.html>
- DE EDUCACIÓN, M. S. (2003). SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE SENA.
- de Oliveira Monteiro, C. M., Daemon, E., Silva, A. M. R., Maturano, R., & Amaral, C. (2010). Acaricide and ovicide activities of thymol on engorged females and eggs of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology research*, 106(3), 615–619.

- Drummond, R., Ernst, S., Trevino, J., Gladney, W., & Graham, O. (1973). *Boophilus annulatus*¹ and *B. microplus*: 1 Laboratory Tests of Insecticides², 3. *Journal of Economic Entomology*, 66(1), 130–133.
- Echeverri, F., Cardona, E., & Torres, F. (2007). Evaluación in vitro de los extractos crudos de *Sapindus saponaria* sobre hembras ingurgitadas de *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE). *Ciencias*.
- Faccioli, V. (2011). Serie de Catálogos. Garrapatas (Acari: Ixodidae y Argasidae) de la colección de invertebrados del Museo Provincial de Ciencias Naturales « Florentino Ameghino ». Serie de Catálogos N°25. Recuperado a partir de <http://orton.catie.ac.cr/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=SENASA.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=004608>
- Gallardo, J., & Morales, J. (1999). *Boophilus microplus* (acari: Ixodidae): preoviposición, oviposición, incubación de los huevos y geotropismo. *Bioagro*, 11(3), 77–87.
- Leite, R. C. (1988). *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiográficas da Baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro, uma abordagem epidemiológica. UFRRJ.
- Martins, R. M., & Gonz'alez, F. H. D. (2007). Uso del aceite de citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt)(Panicoidideae) como acaricida frente a la garrapata *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 9(4), 1–8.
- Osorno Mesa, E. (1941). Las garrapatas de la República de Colombia. Recuperado a partir de <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2000/CO/CO00015.xml;CO1999001953>
- Pivoto, F. L., Buzatti, A., Krawczak, F. da S., Camillo, G., Sangioni, L. A., Zanetti, G. D., Manfron, M. P., et al. (2010). Ação acaricida in vitro de *Tropaeolum majus* sob teleóginas de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Ciência Rural*, (10), 2141–2145.

Servicio Nacional de Aprendizaje SENA - Misión - visión - valores. (s. f.).
Recuperado marzo 21, 2012, a partir de
<http://www.sena.edu.co/Portal/EI+SENA/Misi%C3%B3n++visi%C3%B3n++valores/Visi%C3%B3n.htm>

Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*.
Convenio Andrés Bello.

Anexo 1



GUÍA PRÁCTICA EN LA RECOLECCION Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL PARA EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES

1. INTRODUCCION

La extracción de aceites esenciales es un proceso que depende principalmente del manejo y selección del material vegetal. Se debe tener en cuenta diferentes factores que pueden influir en las características químicas del aceite, tales como, estado de maduración de la planta, área de colección, calidad del material colectado, intensidad lumínica entre otras.

Esta guía práctica busca orientar la recolección del material vegetal que será usado en la extracción de aceites esenciales con el método de arrastre por vapor y así, minimizar las variables que puedan afectar la calidad del aceite a obtener.

2. SELECCIÓN DEL ÁREA VEGETAL A PROCESAR

- **Órganos subterráneos:** raíces, rizomas, tubérculos, bulbos se recolectan en su reposo vegetativo, cuando es mayor su contenido de principios activos es decir, cuando muestra mayor tamaño e inflorescencia.
- **Cortezas:** del tronco y ramas se recolectan en períodos donde exista un ambiente húmedo, pues se facilita su des-cortezado.
- **Los tallos herbáceos y las hojas:** se cortan generalmente al iniciar la floración
- **Las flores:** se cortan antes de abrirse totalmente, privándolas de su pedúnculo. A veces se colectan los botones florales, como en Citrus spp. En las compuestas se recolectan los capítulos antes de abrirse, en otras especies solo los pétalos, o los estigmas y estilo, etc.
- **Los frutos:** los carnosos se recolectan al iniciarse la madurez, los secos cuando están completamente maduros y empiezan a amarillear.
- **Las semillas:** se recolectan cuando estén bien maduras, pero si están contenidas en frutos dehiscentes, hay que esperar a que éstos se abran espontáneamente. Las semillas de frutos carnosos deben limpiarse de restos de la pulpa que las envuelve y secarlas.

Fuente: Israel Guardarrma S. *Introducción a la Fitoterapia y a la Medicina Tradicional*. México, Editorial Herbal, 1999.



3. PRECAUCIONES QUE SE DEBEN TENER EN CUENTA DURANTE LA RECOLECCION

- a. Verificar que la planta que se desea coleccionar no se encuentre dentro de las especies en riesgo de extinción.
- b. Obtener las plantas limpias de tierra, malezas e impurezas que rebajen la calidad de los subproductos
- c. No coleccionar muestras en mal estado
- d. No coleccionar plantas que han estado en contacto con sustancias químicas
- e. No comprimir el material coleccionado para evitar marchitaci3n.
- f. Las raices deben lavarse y cuando son gruesas, cortarlas en rodajas para favorecer su desecaci3n.

4. PLAN DE ACCION

4.1 Toma de datos complementarios sobre el 3rea de recolecci3n de la muestra

Fecha, Hora, Lugar, Descripci3n general del 3rea de coleccion, Humedad relativa del ambiente, Temperatura del ambiente, Temperatura del Suelo.

4.2 Colecci3n del material vegetal siguiendo las recomendaciones generales

Se debe coleccionar aproximadamente 20 kg para aprovechar al m3ximo el potencial de la planta de extracci3n y minimizar el gasto de combustible

4.3 Limpieza del material coleccionado

Para evitar contaminaci3n y procesos enzim3ticos que deterioren la calidad del material vegetal se debe eliminar la mayor parte de las impurezas. Si se trata de partes subterráneas, se debe lavar con agua corriente solamente. Si no hay demasiada suciedad es preferible solo limpiar el material con tela humedada para así evitar exceso de agua que baje el rendimiento de la extracci3n.

4.4 Secado del material

El material deshidratado produce rendimientos sustancialmente mayores asociados al bajo contenido de agua. Teniendo en cuenta lo anterior el material coleccionado se extiende a temperatura ambiente por 48 h para estabilizar el material.

4.5 Manejo del material antes de someterlo a la extracci3n de Aceites esenciales

Para aumentar el 3rea de contacto del vapor y las muestras vegetales, el material se debe cortar en pequeños trozos y pesar justo antes de iniciar el proceso de extracci3n.

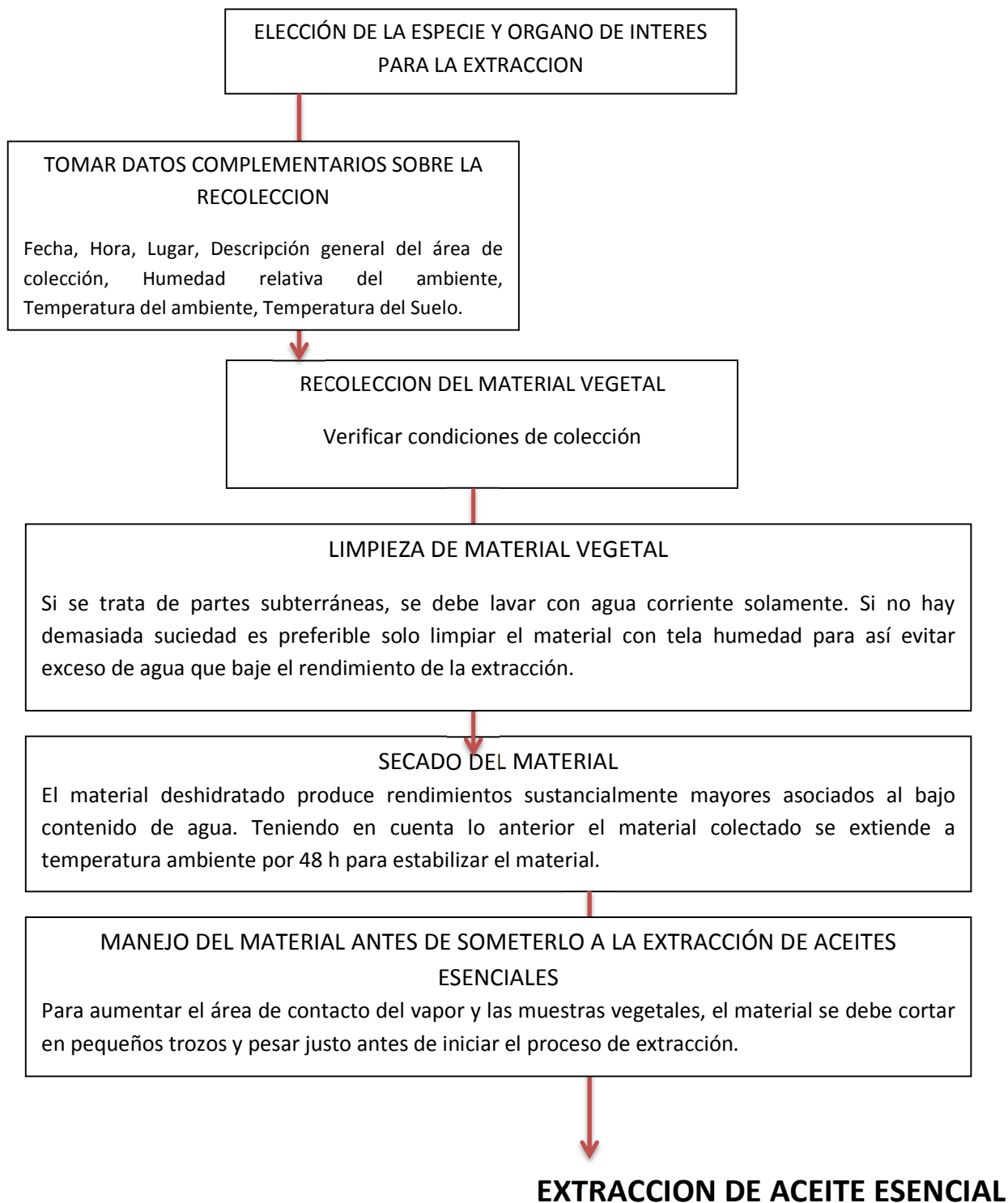
BIBLIOGRAFÍA

Israel Guardarrma S. *Introducci3n a la Fitoterapia y a la Medicina Tradicional*. México, Editorial Herbal, 1999.

J.M ESTRADA S.A. Manual de operaci3n planta de destilaci3n y extracci3n de aceites esenciales.



DIAGRAMA DE FLUJO: GUÍA PRÁCTICA EN LA RECOLECCION Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL PARA EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES



Anexo 2



GUÍA OPERACIONAL PARA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

1. INTRODUCCION

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos orgánicos de diversa naturaleza generados durante el metabolismo propio de los vegetales, Entre las estructuras químicas mas representativas se destacan los terpenos (Ej., el citral presente en el aceite de limonaria), los aromáticos (Ej. La vainilla presente en el aceite de vainilla). Esteres (Ej. El acetato de amilo presente en el aroma de banano), etc.

Entre los procesos utilizados para su extracción, la destilación por arrastre por vapor es el más difundido en la industria por su simplicidad, flexibilidad, efectividad y rendimiento. Este método puede ser empleado en la extracción de aceites esenciales termoestables a partir de hojas, raíces, frutos, flores, cortezas y semillas.

El principio de operación de la extracción por arrastre se puede interpretar a través de conceptos como la volatilidad (asociada a la presión de vapor) y a la presión parcial de los componentes presentes en la mezcla. Según la ley de los gases ideales, la presión total de un sistema (P_{Total}) corresponde a la suma de las presiones parciales (P^*) de todos los componentes presentes, en el caso de una extracción de un aceite esencial por arrastre con vapor de agua, se puede escribir así:

$$P_{total} = P_{agua} + P_{aceite\ esencial}$$

Por otro lado, cuando la presión total de un sistema iguala la presión atmosférica, se produce la ebullición a una temperatura definida. En general los aceites esenciales son mezclas con temperaturas de ebullición altas en comparación con el agua, lo que indica que su volatilidad y evaporación es menor. Cuando la suma de las presiones parciales de los dos componentes (agua y aceite esencial) igual la presión atmosférica durante la extracción, la mezcla entra en ebullición, generando vapores con alto contenido de agua y pequeñas proporciones del aceite. Debido a que comúnmente los aceites esenciales son altamente insolubles en agua, el vapor producido durante la extracción, después de ser enfriado y condensado, genera dos fases líquidas inmiscibles de donde fácilmente se puede recuperar el aceite esencial crudo por decantación. En la mayoría de las ocasiones el aceite es menos denso y se retira por la parte inferior. En los excepcionales se presenta un comportamiento que cambia durante el transcurso de la operación pudiéndose obtener fracciones del aceite más o menos densas que el agua (Ej. Aceite de corteza de canela). Los rendimientos de este tipo de operaciones pueden variar ampliamente dependiendo del tipo y características del material vegetal a procesar, además de las condiciones de operación. En general el material vegetal a procesar, además de las condiciones de operación. En general el material fresco húmedo proporciona rendimientos de aceite esencial no superiores a 0.5% en peso. El material deshidratado produce rendimientos sustancialmente mayores asociados al bajo contenido de agua.



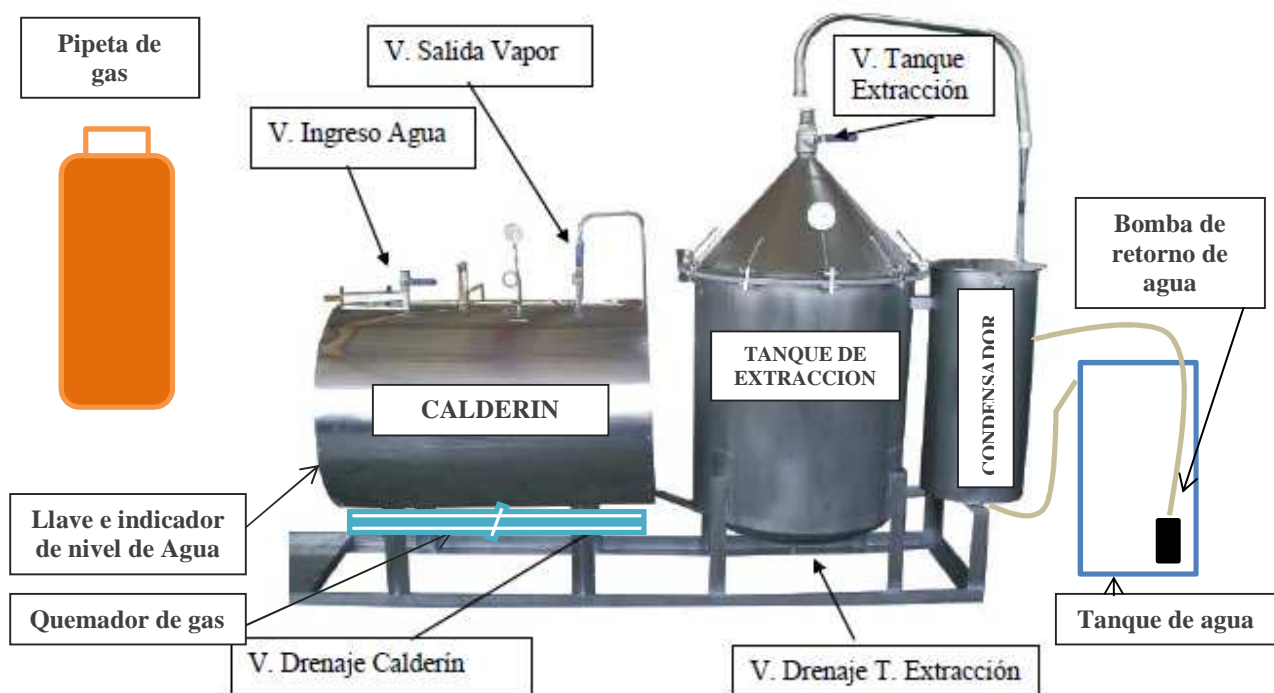
El material vegetal resultante del proceso de extracción puede ser utilizado para la producción de composta, con amplias ventajas comparativas sobre otros materiales pues debido al tratamiento con vapor sufre cierto grado hidrólisis en la estructura de celulosa lo que acelera su descomposición, además este mismo tratamiento genera esterilización lo cual evita la contaminación por microorganismos presentes en el material original.

Tomado: Manual de operación planta de destilación y extracción de aceites esenciales

2. CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTA DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES

La “PLANTA DE DESTILACIÓN EXTRACTORA DE ACEITES ESENCIALES”. Está compuesta básicamente por tres unidades: Calderín o Sistema de generación de vapor, Tanque de extracción Sistema de condensación y condensador.

FAMILIARIZARSE CON LA PLANTA LE PERMITE
UN MEJOR MANEJO DE LA MISMA





3. INSTRUCCIONES DE OPERACIÓN

- a. Llene el formato SENA para extracción de aceites esenciales
- b. Verifique que la llave de la pipeta de gas está cerrada y no presenta fugas

<p>c.</p> 		<ul style="list-style-type: none"> • El material vegetal debe ser tratado según el “protocolo de recolección y procesamiento del material vegetal para extracción de aceites esenciales” • Al inicial la extracción se pesa para posterior mente utilizar el dato en el cálculo de rendimiento.
<p>d.</p> 		<ul style="list-style-type: none"> • Abra las válvulas de entrada de agua, salida de vapor y la válvula del tanque de extracción para liberar aire contenido. • Abra las dos llaves de nivel de agua. • Llene el calderín con agua corriente a través de la llave de entrada ubicada en la parte superior del calderín hasta donde indica la imagen. • Cierre las dos llaves de nivel de agua. • Procedemos a cerrar las válvulas de agua, salida de vapor.
<p>e.</p> 		<ul style="list-style-type: none"> • Libere el tubo cuello de cisne para poder abrir la capsula del tanque de extracción • Sobre las rejillas del tanque ubique el material vegetal uniformemente, teniendo en cuenta dejar espacios en por donde circule el vapor • Cierre de nuevo el tanque verificando que los empaques estén correctamente acoplados. Cierre la válvula del tanque de extracción.



f



- Ubique la bomba de retorno de agua en el tanque fría y encienda.

g. Abra la llave del cilindro de combustible y poco a poco abra la llave reguladora de combustible ubicada en el tanque de calderín, encienda el quemador de combustible debajo del calderín.

h. Revise constantemente el barómetro hasta que indique 10 PSI para iniciar la recolección de hidrolatos

i. Cuando el barómetro indique 10 PSI, abra la llave de salida de vapor, espere 1 minuto y abra la válvula de salida del tanque de extracción. Recolecte inmediatamente los hidrolatos en frascos plásticos limpios.



**GUÍA PRÁCTICA PARA LA OBTENCION DEL ACEITE ESENCIAL DESPUES DE
LA EXTRACCION POR ARRASTRE POR VAPOR, PORCENTAJE DE
RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIONES FISICA INICIALES.**

Anexo 3



GUÍA PRÁCTICA PARA LA RECUPERACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DESPUES DE LA EXTRACCIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR, PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIONES FISICA INICIALES.

1. INTRODUCCION

Después de hacer la extracción de aceites esenciales con la técnica de arrastre por vapor, se debe establecer el porcentaje de rendimiento como una medida de efectividad y de buen desarrollo de la práctica.

Se establece haciendo relación de la cantidad de aceite obtenido frente a la cantidad de material procesado.

Por otro lado es necesario establecer las características físicas iniciales como densidad, pH e índice rotatorio. Dichas cualidades son propias de cada aceite esencial que le dan individualidad y calidad al aceite.

En esta guía encontrará un documento detallado de los cálculos para determinar el porcentaje de rendimiento de una extracción de aceite esencial y el procedimiento para la separación del aceite esencial del subproducto (Hidrolatos) y la determinar las cualidades físicas iniciales.

2. RECUPERACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LOS HIDROLATOS

2.1 Separación por densidades: El total del producto líquido después de la extracción de aceites esenciales se pasa por un balón de separación con el objetivo de visualizar las dos fases y por decantación separar la fase aceitosa del hidrolato.

Vierta en el balón de separación siempre hasta el mismo nivel, una parte de hidrolato y espere unos minutos hasta que se forme la fase aceitosa en la parte superior de la mezcla. Retire la fase acuosa y reserve la fase aceitosa en un recipiente pequeño y color ámbar con tapón de corcho.

2.2 Extracción con solvente orgánico (Diclorometano):

El diclorometano es un compuesto inmisible y más denso que el agua. Se asocia con compuestos orgánicos.



La extracción es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. Puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente.

En la práctica es muy utilizada para separar compuestos orgánicos de las soluciones o suspensiones acuosas en las que se encuentran. El procedimiento consiste en agitarlas con un disolvente orgánico, diclorometano en nuestro caso, inmiscible con el agua y dejar separar ambas capas. Los distintos solutos presentes se distribuyen entre las fases orgánica y acuosa, de acuerdo con las solubilidades relativas.

Ciertos compuestos orgánicos, como los alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres, aminas, etc., capaces de asociarse con el agua a través de puentes de hidrógeno, son parcialmente solubles en este disolvente y en los orgánicos; en estos casos pueden ser necesarias varias extracciones.

Al final para eliminar el exceso de agua en la solución diclorometano- aceite esencial se lava con NaCl. Así se eliminará virtualmente toda el agua.

Se debe adicionar 10 ml por cada 500 ml de hidrolato, agitar por 5 minutos y dejar reposar hasta ver dos capas. Separar la fase más densa. Repetir el mismo proceso tres veces.

Posteriormente adicionar NaCl poco a poco para eliminar la emulsión hasta aclarar la solución.

Llevar al rotavapor a 28°C.





3. SECADO DEL ACEITE ESENCIAL CON SULFATO DE SODIO ANHIDRO (Na_2SO_4)

El sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) tiene la capacidad de deshidratar. Presenta la ventaja, en primer lugar, de que al ser granular se puede decantar y no hace falta filtrar y, en segundo lugar, por su aspecto se puede saber la cantidad que se ha de añadir (tiene tendencia a aglomerarse en el fondo del recipiente cuando hay un exceso de agua).

En el caso de los aceites esenciales es necesario retirar el agua que se haya quedado después de la separación del aceite esencial de los hidrolatos. Así se evita que el agua dañe la calidad del aceite.

En un recipiente cerrado, adicione 3 g de sulfato de sodio anhidro por cada 10ml de aceite y mézclelos con el aceite esencial extraído por 20 a 30 minutos constantemente. Luego deje reposar por 2h.

Luego de las dos horas filtre al vacío el aceite para retirar la sal.

4. DENSIDAD

Tome una probeta de 10 ml, límpiela y séquela con un papel de toalla. Pésela en la balanza analítica. Registre el dato.

En esa misma probeta mida el volumen del aceite obtenido y vuelva a pesar la probeta esta vez con el aceite esencial. Registre el dato.

$$\text{Densidad} = \frac{\text{Masa de la probeta con aceite esencial} - \text{masa de la probeta}}{\text{volumen de aceite esencial contenido.}}$$

5. RENDIMIENTO DE LA EXTRACCION

$$v/p = (\text{Mililitros de aceite obtenido} / \text{Gramos de material vegetal procesado}) \times 100$$

$$p/p = (\text{Gramos de aceite obtenido} / \text{Gramos de material vegetal procesado}) \times 100$$

6. POTENCIAL DE HIDROGENO (pH).

- Encienda el pHmetro y ponga la opción pH.
- Lave con agua destilada el pHmetro
- En un beaker de 5 ml tome 3 ml aprox de aceite esencial y sumerja el pHmetro para realizar la lectura.
- Lave el pHmetro con agua destilada

**CENTRO DE GESTION Y DESARROLLO SOSTENIBLE SURCOLOMBIANO SENA PITALITO
TECNOPARQUE 7 AGROECOLOGICO YAMBORO**



**PROYECTO USO SOSTENIBLE DE LA BIODIVERSIDAD
UNIDAD PRODUCTIVA PRODUCCION DE ACEITES ESENCIALES**



(Cerón-Salazar & Cardona-Alzate, 2011)

Luis Enrique Aya. Factibilidad Técnica de la extracción de aceite esencial de cáscara de limón, Santa fe de Bogota D. C., Universidad Nacional de Colombia, (1992).

Referenciado en 68, 70, 71, 73, 74